



Universidade Estadual de Campinas

Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação

DEPARTAMENTO DE TELEMÁTICA

Caracterizações Topológica, Geométrica e Algébrica dos Produtos da Recombinação do DNA através dos Modelos Tangle e Frações Contínuas

Autora: Luzinete Cristina Bonani de Faria

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Palazzo Júnior

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Reginaldo Palazzo Júnior FEEC/UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Carmen Silvia Bertuzzo FCM/UNICAMP

Prof. Dr. Geraldo Pompeu Junior UNESP/Guaratinguetá

Prof. Dr. Walter da Cunha Borelli FEEC/UNICAMP

Tese apresentada na Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Campinas - SP

JULHO de 2004

Caracterizações Topológica, Geométrica e Algébrica dos Produtos da Recombinação do DNA através dos Modelos Tangle e Frações Contínuas

Este exemplar corresponde à redação final da dissertação devidamente corrigida e defendida por Luzinete Cristina Bonani de Faria e aprovada pela banca examinadora.

Campinas, 29 de Julho de 2004.

Prof. Dr. Reginaldo Palazzo Júnior
Orientador

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Reginaldo Palazzo Júnior
Prof^a. Dr^a. Carmen Silvia Bertuzzo
Prof. Dr. Geraldo Pompeu Junior
Prof. Dr. Walter da Cunha Borelli

Tese apresentada na Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

A todos os meus familiares;

Em especial:

Ao meu filho, Gustavo, que com a sua coragem e vontade de viver me deu uma lição de força e esperança.

Ao meu marido, Misael, que sempre me apoiou com muito amor, dedicação e compreensão.

Às minhas tias, Marlete, Ivani e Alcione, que com ensinamentos de amor, carinho, afeto, lealdade, honestidade e sinceridade me ajudaram a crescer. Meus grandes exemplos de vida.

À minha sogra, dona Nair, muito amável, sábia e prudente.

À minha amiga, Andréa, uma amizade sólida construída em um alicerce de afeto e sinceridade, que sempre esteve presente em vários momentos difíceis me dando força e me apoiando.

Aos meus irmãos, Ana Cláudia, Lucélia e Samuel, meu enorme carinho.

Aos meus pais Anna e Adhemar:

Vocês deixaram seus sonhos para que eu sonhasse.

Derramaram lágrimas para que eu fosse feliz.

Vocês perderam noites de sono para que eu dormisse tranqüila.

Acreditaram em mim apesar dos meus erros.

Jamais se esqueçam que eu levarei para sempre um pedaço do ser de cada um dentro do meu ser.

Dedico

Agradecimentos ¹

Ao Prof. Dr. Reginaldo Palazzo Jr., pela sua excelente orientação, disposição, paciência e compreensão durante o desenvolvimento do trabalho. Em especial, à sua confiança depositada em mim e às inúmeras e agradáveis conversas que tivemos.

Aos professores membros da banca examinadora pela disponibilidade e atenção dispensada ao trabalho, bem como por suas valiosas sugestões.

Ao companheirismo dos colegas com os quais convivi durante o programa de mestrado em Engenharia Elétrica.

Ao meu marido, Misael, pelo constante apoio e compreensão.

A todos meus familiares e amigos, que souberam compreender minhas ausências e sempre me deram a força necessária para seguir em frente.

Aos funcionários da Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

¹Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

Resumo

Nesta dissertação apresentamos um procedimento para a determinação rigorosa das estruturas topológica, geométrica e algébrica das moléculas de DNA formando Nós e Catenanes, que surgem como produtos de recombinação, e com isso indicando a estrutura das moléculas relacionadas. Este procedimento faz uso dos conceitos da classificação de tangles e Nós racionais. A partir destas aplicações, apresentamos uma proposta de modelos matemáticos, o modelo tangle e a descrição algébrica via frações contínuas, capazes de prever os produtos da recombinação com sítios repetidos inversamente, baseando-se nas experiências realizadas por Cozzarelli *et. ali.* com as enzimas *resolvase Tn3* e *integrase*.

Abstract

In this work we present a technique to determine rigorously the topologic, geometric and algebraic structure of the DNA molecules forming knots e catenanes that arise as products of the recombination, and so indicating the structure of related molecules. This procedure is based on the concepts of rational knots and rational tangles classification. From these applications, we propose two mathematical models, the tangle model and the algebraic description via continued fractions, which are capable to predict the products of the recombination with inversely repeated sites based on laboratory experiments realized by Cozzarelli *et. ali.*, using *resolvase tn3* and *integrase* enzymes.

Conteúdo

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	vii
Lista de Figuras	xii
1 Introdução	1
1.1 Histórico	1
1.2 Apresentação do Problema	3
1.3 Descrição do Trabalho	4
2 A Recombinação do DNA e Os Ácidos Nucléicos	7
2.1 A Célula	8
2.1.1 Como surgiu a célula	8
2.1.2 Tipos de células	9
2.1.3 Bactérias e Bacteriófagos	10
2.2 Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos	10
2.2.1 A estrutura das moléculas	11
2.2.2 A molécula de DNA	13
2.3 Como o DNA se Duplica - Duplicação	16
2.4 Como o DNA Fabrica o mRNA - Transcrição	17
2.5 Síntese de Proteínas - Tradução	19
2.5.1 O Código genético	19
2.5.2 Tipos de RNA que participam da tradução	20
2.6 Recombinação do DNA	21

2.6.1	Recombinação homóloga	21
2.6.2	Recombinação sítio-específica - Integração	22
2.6.3	Recombinação transposicional sítio-específica	23
2.6.4	Correlações clínicas	26
2.7	Como Ocorre o Processo de Recombinação	27
2.8	Aproximação Topológica para Enzimologia	28
2.9	Conclusões	30
3	Revisão de Conceitos Matemáticos	31
3.1	Frações Contínuas	31
3.2	Elementos da Teoria dos Nós	34
3.2.1	Nós e isotopias	34
3.2.2	Equivalência de Nós	38
3.2.3	Projeções Nós	39
3.2.4	Conceitos geométricos	41
3.2.5	Tranças de 4-fios (<i>4-plats</i>)	43
3.3	Conclusões	47
4	Classificação dos Tangles Racionais	49
4.1	Tangles e Nós Racionais	49
4.1.1	Um pouco de história dos tangles e Nós racionais	49
4.1.2	Importância dos tangles e Nós racionais	50
4.2	Tangles	51
4.2.1	Tipos de tangles	53
4.3	Tangles Racionais	54
4.3.1	Tangles racionais mais simples	55
4.3.2	Construção de tangles racionais	56
4.3.3	Tangles racionais e suas operações	59
4.3.4	Operação fechamento	63
4.4	Formas do Tangle Racional: Torção, Padrão e Canônica	65
4.4.1	Tangle racional na forma torção	65
4.4.2	Movimentos isotópicos para tangles racionais	67
4.4.3	Tangle racional na forma padrão	71
4.4.4	Tangle racional na forma fração contínua	76
4.4.5	Tangle racional na forma canônica	78
4.5	Frações Contínuas e a Classificação de Tangles Racionais	79

4.6	Conclusões	82
5	O Modelo Tangle para Recombinação Sítio-Específica do DNA	83
5.1	O Complexo Sináptico e a Recombinação Sítio-Específica	84
5.1.1	Discussão da aplicação de tangles racionais para análises de recom- binação do DNA	86
5.1.2	Resolvase Tn3, in vitro	88
5.1.3	Integrase fago lambda (λ), in vitro	90
5.2	Modelo Tangle	91
5.2.1	A estratégia do modelo tangle	91
5.2.2	Modelagem matemática	92
5.2.3	Tangles racionais na recombinação	97
5.3	Cálculo das Equações Tangle para o Modelo Resolvase Tn3	100
5.4	Conclusões	103
6	Aplicação do Modelo Tangle e da Descrição Algébrica na Recombinação Sítio-Específica de um Nó Racional.	105
6.1	O Invariante Topológico de um Tangle Racional	106
6.1.1	A orientação do substrato não trivial S	114
6.2	Recombinação de um Nó Racional não Trivial, com Sítios Repetidos Inver- samente	115
6.2.1	Recombinação gerando um cruzamento (+) em cada rodada da re- combinação	116
6.2.2	Recombinação gerando um cruzamento (-) em cada rodada da re- combinação	130
6.3	Conclusões	145
7	Conclusões	147
7.1	Contribuições	147
7.2	Propostas para Trabalhos Futuros	148
	Referências Bibliográficas	150

Lista de Figuras

1.1	Propriedades topológicas.	1
2.1	Célula eucariótica.	10
2.2	Célula procariótica.	10
2.3	Bases Nitrogenadas do DNA.	11
2.4	Nucleotídeos do DNA.	12
2.5	Bases Nitrogenadas do RNA.	12
2.6	Nucleotídeos do RNA.	13
2.7	Formas tautoméricas das bases.	14
2.8	Estrutura tridimensional do DNA.	15
2.9	Fitas complementares de DNA.	15
2.10	Processo da duplicação.	17
2.11	Processo da transcrição.	18
2.12	Processo de condicionamento.	19
2.13	Processo da tradução.	20
2.14	Diagrama de uma recombinação recíproca de DNA λ e DNA de E. coli. As regiões amarelas marcam seqüências idênticas de 15 unidades (chamadas O) do local bacteriano attB e do local attP do fago	23
2.15	Integração e excisão do DNA λ . Int indica integração, e xis indica excisionase. IHF (fator de integração do hospedeiro) é uma proteína do hospedeiro, enquanto int e xis são codificadas por λ	24
2.16	Repetições diretas nas extremidades dos transposons.	25
2.17	Rearranjos genéticos promovidos por transposons.	25
3.1	Nó trivial.	34
3.2	Nó não trivial.	35
3.3	Catenane ou link.	35
3.4	Catenane trivial.	36

3.5	Catenane não trivial.	36
3.6	Movimentos de Reidemeister	37
3.7	Condição limite	38
3.8	Nó orientado.	39
3.9	Projeção Nó ou diagrama Nó.	40
3.10	Convenção de sinais	40
3.11	(a) é o Nó trefoil $(-)$, e (b) é o Nó trefoil $(+)$. Ambos são quirais e membros mais simples da família toro de Nós.	41
3.12	Nó aquiral.	41
3.13	Diagramas alternantes.	42
3.14	Trança de 4 fios, $4-plat$	43
3.15	Uma trança de três fios $b \in B_3$, onde B_3 denota o grupo das tranças de 3 fios. O fechamento \bar{b} de uma trança de b é obtido ligando os pontos iniciais aos pontos finais por uma coleção de fios paralelos.	44
3.16	Equivalência de tranças.	45
3.17	Trança fechada.	45
3.18	(a) Construção de uma trança de 4 fios. (b) Conversão de uma trança de 4 fios em um $4-plat$	46
3.19	Trefoil $(-)$ e $(+)$	47
3.20	Nó figura-8.	47
3.21	Catenane figura-8.	47
4.1	$2-tangle$	52
4.2	Tipos de orientação para tangles com dois arcos.	52
4.3	(1)tangle racional, (2)tangle localmente nosado e (3)tangle primo.	53
4.4	$[0]$ -tangle e $[\infty]$ -tangle.	55
4.5	Tangles racionais: $[0]$, $[\infty]$, $[-1]$ e $[+1]$	56
4.6	Cruzamento do tipo $(-)$ e do tipo $(+)$	56
4.7	Tangles inteiros.	57
4.8	Tangles verticais.	57
4.9	Construção de tangles.	58
4.10	Cancelamento de cruzamentos.	58
4.11	Construindo o $(2,3,4)-tangle$	59
4.12	Adição de tangles.	60
4.13	Adição de tangles.	60
4.14	Multiplicação de tangles.	61

4.15	Operações entre tangles.	61
4.16	Rotação e inversão de 2 -tangles.	63
4.17	O <i>numerador</i> e o <i>denominador</i> de um 2 -tangle.	64
4.18	Trasnformando <i>numerador</i> em <i>denominador</i>	64
4.19	Tangle racional na forma torção.	66
4.20	Movimentos flype.	67
4.21	Tangle não alternante e alternante.	68
4.22	Flip horizontal e vertical.	69
4.23	O $\frac{30}{7}$ -tangle.	70
4.24	Criando tangles racionais na forma padrão.	71
4.25	A tangle na forma padrão.	72
4.26	Tangle racional abstrato com 3 fitas.	73
4.27	n par.	73
4.28	n ímpar.	73
4.29	Tangle racional na forma torção.	74
4.30	Tangle racional na forma padrão.	75
4.31	A tangle na forma padrão.	77
4.32	Tangle não alternante e alternante.	78
4.33	Aplicação de movimentos isotópicos para deixá-lo alternante.	79
5.1	Estágios da recombinação sítio-específica.	85
5.2	Repetições Diretas.	86
5.3	Repetições Inversas.	86
5.4	Sinaptosome.	87
5.5	Produtos de recombinação pelo sistema resolvase.	89
5.6	Modelo tangle para recombinação processiva.	94
5.7	Modelo tangle para recombinação processiva.	97
5.8	Quatro rodadas de recombinação processiva com repetições diretas.	102
6.1	Movimentos isotópicos.	107
6.2	Movimentos isotopias.	108
6.3	Tangle B	109
6.4	Tangle racional C	112
6.5	Os tangles A , B e C são isotópicos.	113
6.6	O Numerador do tangle racional C , o Nó racional O	113
6.7	Nó orientado, RI, RD.	114

6.8	Tangle orientado.	115
6.9	Projeção planar do substrato.	117
6.10	Projeção planar da pré-recombinação.	118
6.11	Projeção planar da primeira recombinação.	119
6.12	Projeções planares do substrato, da pré-recombinação.	125
6.13	Projeção planar do substrato.	131
6.14	Pré-recombinação.	132
6.15	Projeção planar da primeira recombinação.	133
6.16	Projeções planares do substrato e da pré-recombinação.	139

Capítulo 1

Introdução

1.1 Histórico

Toda população natural de anéis de DNA surgem como formas interligadas de Nós e de Catenanes (curvas não simples) apresentando uma topologia muito complexa e ao mesmo tempo essencial para a modelagem matemática do mecanismo enzimático. Após uma reação enzimática, podem ocorrer naturalmente na molécula de DNA três propriedades topológicas: *as supertorções, o nosamento e a catenização*, como mostra a Figura 1.1.

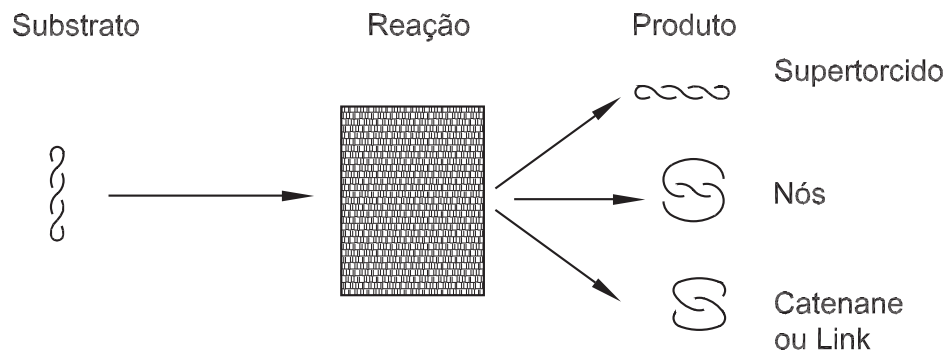


Figura 1.1: Propriedades topológicas.

A formação de uma catenização intermediária pode causar um problema topológico no término da replicação do DNA. Tanto os Nós quanto as Catenanes podem ser alterados pela recombinação sítio-específica ou pelas ações de enzimas topoisomerases, nos fornecendo assim, as informações topológicas sobre o mecanismo enzimático e a estrutura

da reação intermediária do DNA. A dedução do mecanismo e das alterações topológicas da estrutura do DNA exige tanto de sua análise matemática como experimental.

As conseqüências dessas alterações e a forma espacial completa de Nós e Catenanes podem ser determinadas por microscopia eletrônica de moléculas recobertas com proteínas, e essas informações têm sustentado uma compreensão crítica do mecanismo dos processos que geram e desvendam essas formas que estão interligadas. O potencial dos métodos topológicos está na habilidade de distinguir, entre um número muito grande de Nós e Catenanes, qual deverá surgir como produto. Por exemplo, um esquema proposto em [10] por recombinação integrativa bacteriófago λ , previu corretamente a estrutura de um produto Nó entre 10^8 possibilidades de formas alternativas.

Diante de tal complexidade, faz-se necessário construir um esquema de classificação rigoroso que determine se duas moléculas que aparentam ser diferentes, são realmente distintas topologicamente, isto é, não podem ser transformadas uma na outra sem quebrar os elos de ligação. A classificação associa Nós e Catenanes com números ou polinômios ou grupos. Esses são os invariantes, pois não podem ser mudados por qualquer deformação na estrutura dos elos de ligação, e portanto descreve um topoisomero em qualquer que seja sua forma entrelaçada.

Durante os últimos vinte anos, muitas pesquisas nessa área foram realizadas [7]-[22]. Apenas nos últimos dez anos, é que foram propostos métodos e modelos cada qual com suas vantagens e limitações [14]-[22]. Um dos métodos bastante explorado é o que faz uso da teoria dos tangles (emaranhado numa bola tridimensional) na recombinação. Este método foi proposto por Witt Sumners em [14], com o objetivo de modelar a ação enzimática da recombinação sítio-específica de um substrato trivial baseando-se nos mecanismos *resolvase* e *integrase* (*in vitro*). Posteriormente, Ernest e Sumners [15]-[17] (através das equações tangle) determinaram os produtos resultantes desta recombinação (os invariantes topológicos), tendo apenas as informações sobre o substrato e a ação enzimática. Outro grupo de pesquisadores [23]-[26], aprofundaram-se na teoria da classificação dos tangles e dos Nós racionais, inicialmente pesquisado por Conway em [2] e posteriormente explorado por Kauffman e Lambropoulou em [24]-[26].

Nesta dissertação, utilizamos o modelo tangle e a teoria da classificação de tangles e Nós racionais, conceitos importantes na descrição da recombinação de enzimas, capazes de determinar os invariantes topológicos e suas projeções planares para os produtos resultantes desta recombinação.

Usando tangles, podemos rigorosamente deduzir o mecanismo enzimático através da topologia do substrato e do produto do DNA. Se conhecemos o mecanismo enzimático e

a estrutura do substrato ou do produto, podemos deduzir a estrutura do outro. A teoria dos tangles descreve Nós e Catenanes em termos de um entrelaçamento do DNA.

1.2 Apresentação do Problema

O empacotamento, as torções, e os confinamentos topológicos, quando considerados conjuntamente resultam em um entrelaçamento topológico que apresenta problemas para as moléculas de DNA no núcleo celular. Esse entrelaçamento interfere nos processos de replicação, transcrição e recombinação. A solução biológica para o problema do entrelaçamento, é garantida pela existência de enzimas (topoisomerases e recombinases) que, para mediar esses processos vitais, manipulam o DNA celular de maneiras não triviais e interessantes topologicamente. Para descrever e compreender as ações enzimáticas, usamos um novo protocolo experimental, a aproximação topológica para a enzimologia, que explora a teoria dos Nós com o objetivo de desvendar os segredos das ações enzimáticas.

Esta dissertação se concentra na recombinação do DNA, processo de extrema importância para a evolução das espécies, e que está envolvida no reparo do DNA. Três processos bem caracterizados, tais como, a recombinação homóloga, a recombinação sítio-específica e a recombinação transposicional, encaixam-se nessa descrição geral da recombinação genética. Entretanto, apenas os dois últimos tipos de recombinação são considerados em nosso trabalho.

Nos processos de recombinação, o DNA sofre ações enzimáticas que promovem mudanças topológicas na fita de DNA, isto é, formam configurações que são denominadas Nós ou Catenanes.

Em [8]-[14], essas ações enzimáticas foram estudadas e seu mecanismo foi interpretado e modelado matematicamente, possibilitando assim, prever com exatidão os produtos gerados pelas rodadas de recombinação. Os trabalhos realizados, envolvendo modelos matemáticos para o DNA, tiveram como base os sistemas *resolvase* e *integrase*, [8] e [9].

Acreditamos que o entendimento dos resultados laboratoriais e com a ajuda da modelagem matemática, a recombinação sítio-específica, iniciando com organismos mais simples, como por exemplo os bacteriófagos, pode ser o primeiro passo para a compreensão do empacotamento celular. Desvendar o empacotamento celular não é uma tarefa simples, pois pouco se sabe a respeito do processo biológico inerente. Conseqüentemente, propostas de modelos matemáticos ficam bastantes comprometidas. Apesar de não estarem claro os problemas que envolvem o empacotamento, podemos afirmar seguramente que tais problemas estão inseridos em três situações, quais sejam:

1. Dado o conhecimento topológico do substrato e do produto, deduzir o mecanismo enzimático.

$$(\text{Substrato}) \longrightarrow (\textbf{Ação enzimática}) (?) \longrightarrow (\text{Produto});$$

2. Dado o conhecimento topológico do substrato e da ação enzimática, deduzir o produto.

$$(\text{Substrato}) \longrightarrow (\text{Ação enzimática}) \longrightarrow (\textbf{Produto}) (?);$$

3. Dado o conhecimento topológico da ação enzimática e do produto, deduzir o substrato.

$$(\textbf{Substrato}) (?) \longrightarrow (\text{Ação enzimática}) \longrightarrow (\text{Produto}).$$

O objetivo desta dissertação é apresentar ferramentas matemáticas que possibilitem a construção e a aplicação de modelos matemáticos na resolução de problemas inseridos na situação 2.; que sejam capazes de prever todos os produtos gerados através de todas as possibilidades de recombinação de um Nó racional. Com isso, podendo estendê-lo para outras famílias de Nós tão somente baseando-se nas experiências realizadas com as enzimas *resolvase Tn3* e *integrase*. Para isso, utilizamos o modelo tangle e a descrição algébrica, via frações contínuas, na recombinação de um Nó racional, onde cada forma topológica é associada a um único número racional e sua forma canônica. Esse número racional e sua forma canônica além de permitir uma determinação rigorosa das moléculas de DNA que formam Nós ou Catenanes, explicita as estruturas topológica, geométrica e algébrica das moléculas relacionadas.

1.3 Descrição do Trabalho

Esta dissertação encontra-se dividida em sete capítulos. Os próximos seis capítulos estão organizados da seguinte forma:

Capítulo 2: Fazemos uma breve revisão dos principais conceitos bioquímicos, nos quais se fundamenta o restante do trabalho;

Capítulo 3: Apresentamos, alguns dos principais conceitos da álgebra e da topologia, embora elementares, são fundamentais para a compreensão do trabalho;

Capítulo 4: Apresentamos, com detalhes, os conceitos e propriedades essenciais para a classificação de tangles racionais, e mostramos como os tangles racionais ocupam importância fundamental no estudo da recombinação do DNA;

Capítulo 5: Descrevemos o modelo tangle, um procedimento que utiliza tangles racionais para se calcular as equações tangle e determinar as suas frações, os invariantes topológicos, que podem ser usados na classificação dos tipos de formas de Nós e Catenanes, associando cada uma dessas formas a um único invariante topológico. Ressaltamos também, a importância da racionalidade dos tangles envolvidos neste procedimento.

Capítulo 6: Baseados nos conceitos e procedimentos apresentados nos Capítulos 4 e 5 respectivamente, mostramos uma proposta para a aplicação de dois modelos matemáticos para se calcular os invariantes topológicos e associá-los aos tipos de Nós e Catenanes.

Capítulo 7: Neste capítulo apresentamos as conclusões e uma relação de trabalhos futuros.

Capítulo 2

A Recombinação do DNA e Os Ácidos Nucléicos

O objetivo principal deste capítulo é apresentar, de forma sucinta, a revisão de alguns conceitos bioquímicos dos assuntos utilizados no desenvolvimento desta dissertação. Utilizamos nessa exposição os artigos [7]-[9] e as literaturas [27]-[29]. Este capítulo é parte comum do Capítulo 2 da dissertação de Mestrado Rocha, [32], uma vez que, esta dissertação e a dissertação [32] estão inseridas em um mesmo contexto biológico tratando-se do mesmo problema, porém apresentam propostas de soluções distintas.

Sabemos que algumas características bioquímicas são comuns a todos os organismos, como, por exemplo, o modo pelo qual a informação hereditária é codificada e expressa, e a maneira pela qual as moléculas biológicas são formadas e fragmentadas para produzir energia. A base genética e bioquímica dos organismos atuais sugere que eles descendem de um ancestral comum. Todas as culturas do passado e do presente possuem seus mitos criacionistas que racionalizam o modo pelo qual a vida teria surgido. No entanto, somente na era atual tem sido possível considerar a origem da vida em termos científicos. A Seção 2.1, apresenta uma visão geral de como teria surgido a vida, a evolução celular e os tipos de células existentes, e na Subseção 2.1.3, comentamos rapidamente, sobre bactérias e bacteriófagos, por serem objetos de consideração em nosso trabalho. Na Seção 2.2, mostramos a importância dos nucleotídeos e ácidos nucleicos (DNA e RNA) nas atividades celulares, bem como, na manutenção e na propagação da vida. Os ácidos nucleicos, possuem algumas diferenças em relação às suas estruturas, a Subseção 2.2.1 expõe essas diferenças. O DNA funciona como um banco de informações genéticas, que transfere essas informações, com o objetivo de garantir a integridade da informação genômica. Um tipo

de transferência de informação é mostrada na Seção 2.3, que apresenta a simplicidade do esquema básico para a replicação, o qual esconde um conjunto complexo de intrincados processos coordenados, pois uma multiplicidade de enzimas e fatores protéicos participam desses processos. Outro tipo de transferência de informação, ocorre quando a seqüência do DNA é copiada exatamente no RNA. O processo através do qual são feitas cópias em RNA de seqüências do DNA é chamado transcrição, e está descrito na Seção 2.4. A Seção 2.5, apresenta a biossíntese de proteínas também chamada de tradução, uma vez que envolve a tradução bioquímica da informação, de uma linguagem de quatro letras e estrutura de ácidos nucleicos, em uma linguagem de 20 letras e estrutura de proteínas. Na Seção 2.6, mostramos quais são os tipos de recombinação, como funcionam os seus mecanismos, e algumas correlações clínicas que envolvem recombinações. Nas Seções 2.7 e 2.8, descrevemos respectivamente, como ocorre o processo de recombinação e apresentamos uma abordagem topológica sobre o estudo das ações enzimáticas, ambos em um contexto específico a ser considerado em nossa dissertação. Finalmente, na Seção 2.9 fazemos as conclusões sobre este capítulo.

2.1 A Célula

Nesta seção, mostramos uma das teorias de como teria surgido a vida, através do desenvolvimento das células. Comentamos, ainda nesta seção, sobre os tipos de células, bactérias e bacteriófagos.

2.1.1 Como surgiu a célula

Há mais de três bilhões de anos, sob condições não inteiramente claras e num instante do tempo difícil de compreender, elementos como carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre e fósforo formaram compostos químicos simples. Eles combinaram-se, dispersaram-se e recombinaaram-se, formando várias moléculas maiores, até surgir uma combinação capaz de se auto-replicar. Essas macromoléculas consistiram de moléculas mais simples, unidas por ligações químicas. Com a contínua evolução e a formação de moléculas ainda mais complexas, o meio aquoso ao redor de muitas dessas moléculas auto-replicativas foi envolto por uma membrana. Esse desenvolvimento proporcionou a essas estruturas primordiais a capacidade de controlar seu próprio meio, até certo grau. Uma forma de vida tinha se desenvolvido e a unidade de espaço tridimensional, a célula, tinha se estabelecido.

Com o passar do tempo, diversas células se desenvolveram e tanto a química como a

estrutura destas células tornaram-se mais complexas. Elas conseguiram extrair nutrientes do meio, converter quimicamente estes nutrientes em fonte de energia ou em moléculas mais complexas, controlar os processos químicos que catalisavam e fazer a replicação celular. Desse modo, a vasta diversidade de vida hoje observada, começou. A **célula** é a unidade básica da vida em todas as formas de organismos vivos, da mais simples bactéria ao mais complexo animal.

2.1.2 Tipos de células

Com base em diferenças microscópicas e bioquímicas, as células são divididas em duas classes: *procariotos*, que incluem bactérias e rickettsiae, e *eucariotos*, que incluem células de leveduras, fungos, vegetais e animais.

Um **procarioto** é uma célula, cujo material genético está presente por toda célula. Em um **eucarioto**, o material genético está organizado em um compartimento bem definido, o **núcleo**, e o DNA está organizado transitoriamente em estruturas compactas chamadas **cromossomos**. Outra diferença importante entre procariotos e eucariotos está na maneira que a própria molécula de DNA está organizada. Por exemplo, o DNA dos eucariotos está altamente associado com proteínas específicas para formar nucleoproteínas (que são reorganizadas para formar cromossomos), enquanto que o DNA dos procariotos está livre de tais proteínas estruturais.

A distinção entre procariotos e eucariotos é extremamente importante porque, por razões desconhecidas, existem profundas diferenças bioquímicas entre essas duas células. Por exemplo, a reunião de aminoácidos em proteínas ocorre por um mesmo mecanismo em células humanas e em eucariotos unicelulares, tais como levedo e algas. Em comparação, síntese proteica em bactérias, que são procariotos, diferem em muitas maneiras dos eucariotos.

Alguns organismos, tais como fago e vírus, que são subcelulares em sua organização, mas que dependem das células como um meio ambiente para sua reprodução, não são procariotos e nem eucariotos. O bacteriófago cresce somente em bactéria e portanto, adotam uma estratégia procariótica para reprodução, enquanto que vírus animais e vegetais são obrigados a produzir seus componentes macromoleculares, usando regras eucarióticas.

Muito mais se conhece sobre procariotos que eucariotos, porque os sistemas dos procariotos são mais simples.

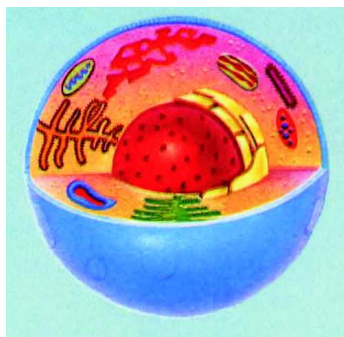


Figura 2.1: Célula eucariótica.

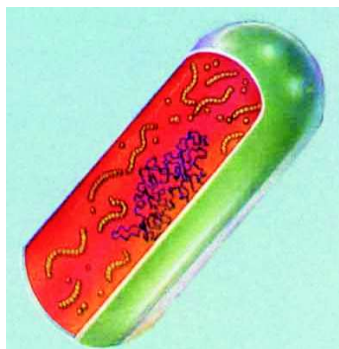


Figura 2.2: Célula procariótica.

2.1.3 Bactérias e Bacteriófagos

Bactérias são organismos unicelulares de vida livre. Elas são procariotos, pois possuem um único cromossomo que não está incluso em um núcleo, e comparadas a eucariotos, elas são simples em sua organização física.

As bactérias possuem muitas características que as tornam adequadas para o estudo dos processos biológicos fundamentais. Por exemplo, elas crescem facilmente e rapidamente e, comparadas a células em organismos multicelulares, elas são relativamente simples em suas necessidades. A bactéria que mais tem servido o campo da biologia molecular é a *Escherichia coli* (usualmente citada como *E. coli*).

Bactérias estão sujeitas a ataques de organismos menores chamados bacteriófagos ou simplesmente fagos. Os fagos são partículas menores, que fazem parte de uma classe geral de partículas chamadas vírus, e eles só são capazes de se reproduzir dentro de uma bactéria. Fago tem sido uma escolha para muitos tipos de experiências, porque sua estrutura e seu ciclo de vida são muito mais simples quando comparados aos das bactérias.

2.2 Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos

Se os principais componentes moleculares das células vivas fossem classificados de acordo com suas propriedades físicas e químicas, nenhum deles seria mais versátil que os nucleotídeos, isto é, unidades ligadas entre si que compõem os ácidos nucleicos.

Comparados a outras classes de moléculas - proteínas, carboidratos e lipídeos - os ácidos nucleicos são notáveis pelo seu envolvimento em reações fundamentais para a manutenção e para a propagação da vida. Especificamente, os nucleotídeos participam na transferência de energia, e suas formas poliméricas, os ácidos nucleicos (DNA e RNA),

são os participantes básicos no armazenamento e na codificação da informação genética.

Os nucleotídeos e os ácidos nucleicos também desempenham funções estruturais e catalíticas nas células. Nenhuma outra classe de moléculas participa de funções tão diversas ou de tantas funções essenciais a vida.

Os evolucionistas postulam que o surgimento dos nucleotídeos permitiu a evolução de organismos capazes de incorporar e armazenar energia do ambiente e, principalmente, capazes de produzir cópias de si mesmo. Apesar de os detalhes químicos e biológicos a respeito de formas primordiais de vida serem objeto de especulação, não há controvérsias a respeito do fato de que a vida, como a conhecemos, está intimamente relacionada à química dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos.

2.2.1 A estrutura das moléculas

Tanto o DNA como o RNA são polímeros, isto é, moléculas formadas por várias unidades menores ligadas entre si de modo organizado. Os polímeros podem ser lineares ou ramificados e podem conter um ou mais tipos de unidades estruturais (monômeros).

Existem quatro diferentes tipos de nucleotídeos no DNA, que estão ilustrados na Figura 2.4. Cada nucleotídeo é sempre composto por três partes: um grupo fosfato, uma pentose - a desoxirribose - e uma base nitrogenada. Há quatro tipos de bases no DNA: duas delas maiores, **adenina e guanina**, são chamadas **purinas** e são constituídas por um anel duplo de carbono e nitrogênio. As outras duas menores, **citossina e timina**, são compostas por um anel simples e são chamadas de **pirimidinas**.

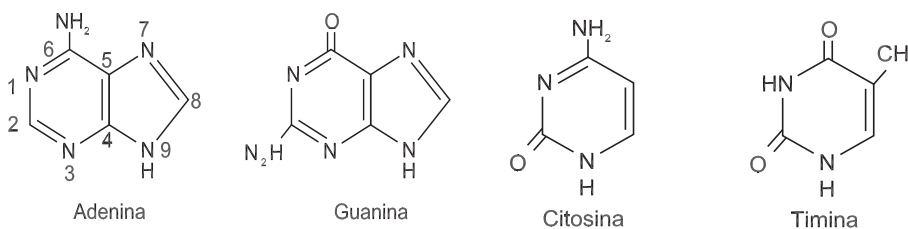


Figura 2.3: Bases Nitrogenadas do DNA.

Embora pareça não haver regras na composição dos nucleotídeos de moléculas de RNA típicas, o DNA possui um número de resíduos de adenina igual ao de timina ($A=T$) e um número de resíduos de guanina igual aos de citossina ($G \equiv C$). Essas relações, conhecidas como **regra de Chargaff**, foram descobertas no final dos anos 40 por Erwin Chargaff,

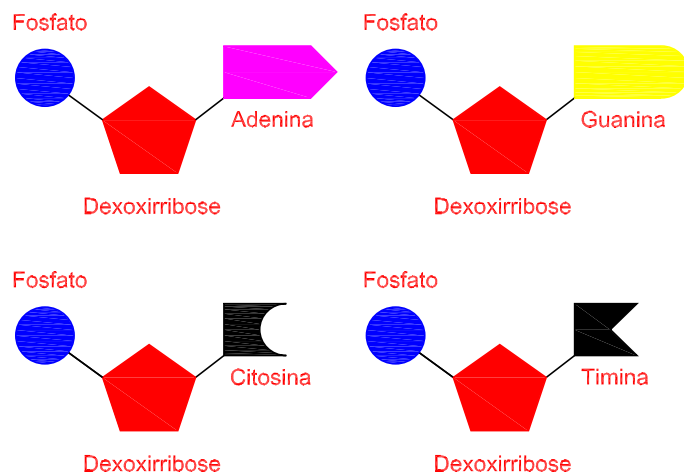


Figura 2.4: Nucleotídeos do DNA.

que desenvolveu o primeiro método quantitativo confiável para a análise da composição do DNA.

O RNA é também uma longa fita de nucleotídeos ligados entre si. Contrariamente ao DNA, a molécula de RNA é sempre constituída por uma **fita única**.

Os nucleotídeos do RNA apresentam algumas diferenças com relação aos do DNA. A pentose no RNA é sempre a ribose (no DNA é a desoxirribose). Nos nucleotídeos de RNA pode estar presente uma das seguintes quatro bases: adenina, guanina, citosina e uracila. As três primeiras também aparecem no DNA. A uracila é exclusiva do RNA, da mesma forma que a timina caracteriza o DNA.

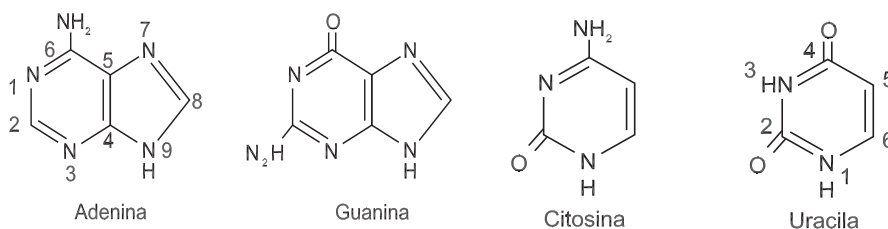


Figura 2.5: Bases Nitrogenadas do RNA.

As moléculas de RNA são classificadas de acordo com os papéis que desempenham nos processos de transferência de informação. Em procariotos, a transcrição e a tradução ocorrem muito próximas uma da outra. Na verdade, os ribossomos podem começar a traduzir o RNA mensageiro, RNA que leva ao citoplasma a “mensagem genética”, en-

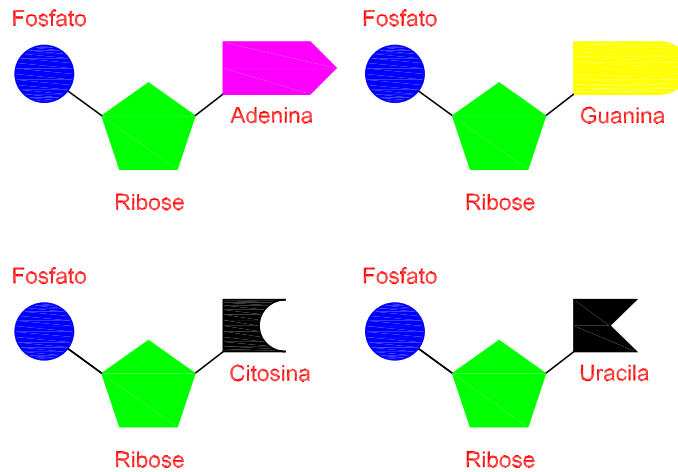


Figura 2.6: Nucleotídeos do RNA.

quanto ainda está sendo sintetizado. Em eucariotos, esses processos são especialmente separados: a transcrição ocorre no núcleo e a tradução, no citoplasma da célula.

2.2.2 A molécula de DNA

O DNA é um ácido desoxirribonucleico, isto é, um polímero de desoxinucleotídeos cuja sequência de base codifica a informação genética em todas as células vivas.

Os aspectos estruturais específicos do DNA variam, dependendo da origem e da função de cada molécula de DNA. As moléculas de DNA diferem em tamanho, conformação e topologia. Apesar de algumas formas de DNA celulares existirem como estruturas de fita única, a estrutura de DNA mais difundida é a dupla hélice (ou duplex).

A determinação da estrutura do DNA por James Watson e Francis Crick em 1953 é, em geral, aceita como o marco do surgimento da biologia molecular moderna. A **estrutura do DNA de Watson-Crick** não apenas forneceu um modelo da molécula fundamental da vida, como também sugeriu o mecanismo molecular da hereditariedade. Os achados de Watson e Crick, listados como uma das principais descobertas intelectuais da ciência, foram baseados, em parte, em duas evidências além da regra de Chargaff: as formas tautoméricas corretas das bases e as indicações de que o DNA seria uma molécula helicoidal.

As bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos podem assumir diferentes formas tautoméricas (**tautômeros** são isômeros de conversão fácil, diferindo entre si apenas nas posições do hidrogênio, Figura 2.7.).

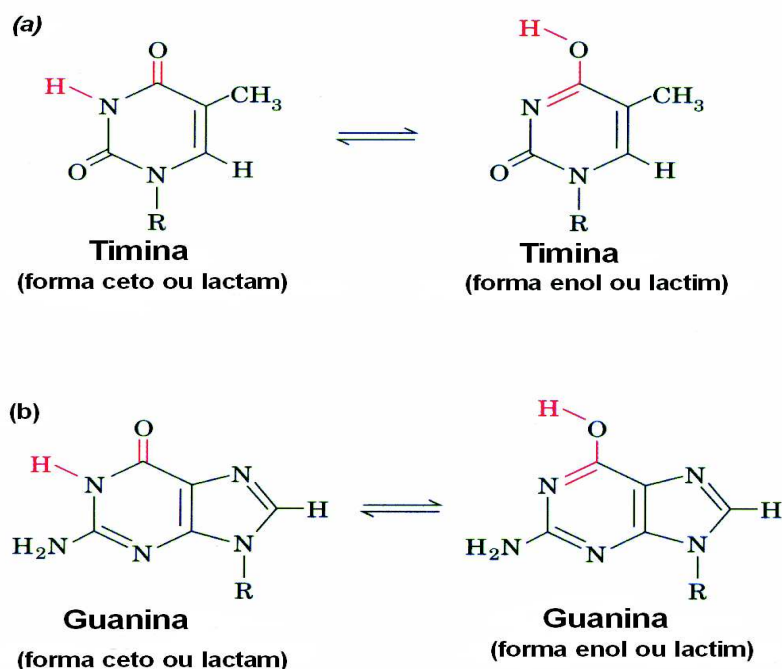


Figura 2.7: Formas tautoméricas das bases.

As informações estruturais limitadas, juntamente com a regra de Chargaff, forneceram alguma idéia da estrutura do DNA. O modelo de Watson e Crick foi elucidado principalmente pela imaginação deles e por estudos de construção de modelos. Uma vez publicado, o modelo de Watson e Crick foi rapidamente aceito devido à sua simplicidade, associada à sua óbvia relevância biológica. Investigações posteriores confirmaram a precisão geral do modelo, apesar dos detalhes terem sido modificados.

O modelo de Watson e Crick possui as seguintes características principais:

1. Duas cadeias polinucleotídicas circundam um eixo comum formando a **dupla hélice** (Figura 2.8).
2. As duas fitas de DNA são **antiparalelas** (possuem direções opostas), mas cada uma forma uma hélice para o lado direito.
3. As bases ocupam o centro da hélice, e as cadeias de açúcar-fosfato estão dispostas na periferia, minimizando a repulsão entre os grupos fosfato carregados. A superfície da dupla hélice forma dois sulcos de largura desigual: a **cavidade maior** e a **cavidade menor**.
4. Cada base está ligada a uma base da fita oposta por meio de pontes de hidrogênio,

formando um **par de base** planar. A estrutura de Watson e Crick pode acomodar apenas dois tipos de pares de base. Cada resíduo de adenina deve formar o par com um resíduo de timina e vice-versa, e cada resíduo de guanina deve formar par com um resíduo de citosina e vice-versa (Figura 2.9). Essas interações por pontes de hidrogênio, um fenômeno denominado como **pareamento das bases complementares**, resulta na associação específica das duas cadeias da fita dupla.

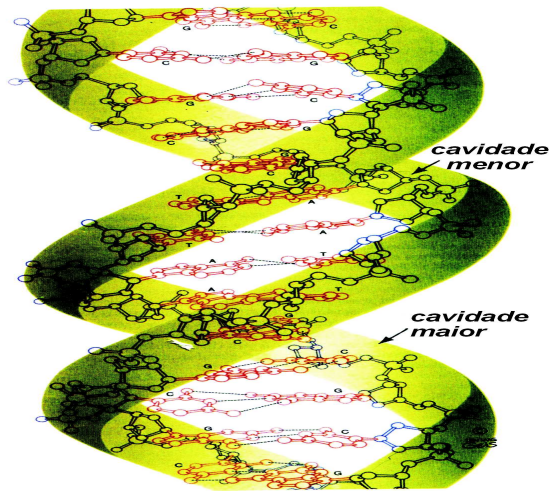


Figura 2.8: Estrutura tridimensional do DNA.

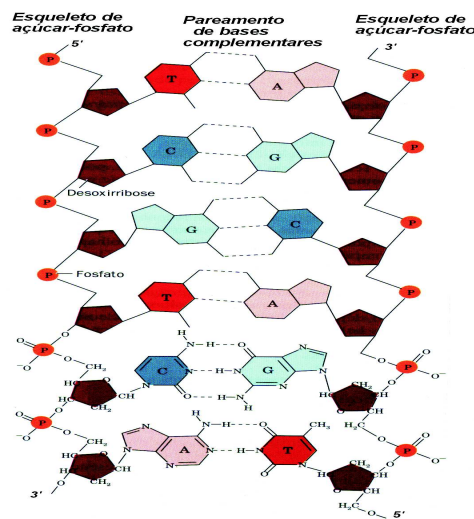


Figura 2.9: Fitas complementares de DNA.

A estrutura de Watson e Crick poderá acomodar qualquer sequência de bases em uma

fita polinucleotídica se a fita oposta possuir a sequência de bases complementares a ela. Isso explica a regra de Chargaff. Mais importante ainda, sugere que cada fita de DNA pode atuar como um **molde** para a síntese de sua fita complementar e, conseqüentemente, a informação hereditária está codificada na sequência de bases em qualquer fita.

A maioria das moléculas de DNA é extremamente grande, de acordo com sua função de conter toda a informação genética da célula. Com raras exceções, os organismos mais complexos contêm mais DNA. O **genoma** de um organismo, que é seu conteúdo específico de DNA, pode estar distribuído em diversos **cromossomos** (do grego, *chromos*, cor + *soma*, corpo), cada um contendo uma molécula de DNA separada.

Devido o seu comprimento muito longo, as moléculas de DNA são descritas em termos do número de pares de bases (**pb**) por milhares de pares de bases (**quilobases em pares** ou **kb**). Apesar de cada molécula de DNA ser longa e relativamente firme, ela não é completamente rígida. A dupla hélice de DNA forma espirais e voltas quando compactada dentro da célula. Além disso, dependendo da sequência de nucleotídeos, o DNA pode adotar conformações helicoidais levemente distintas. Por fim, na presença de outros componentes celulares, o DNA pode dobrar-se ou suas duas fitas podem ser parcialmente desenroladas.

A dupla hélice existe em várias geometrias designadas como DNA A, DNA B, DNA C e DNA Z. A formação dessas diferentes conformações depende da composição em bases do DNA e das condições físicas. O modelo descrito por Watson e Crick possui a conformação do DNA B.

O DNA circular de dupla fita, ou dupla hélice, tem uma topologia interessante, que será objeto de consideração em nosso trabalho. Então, quando mencionarmos DNA no decorrer dos próximos capítulos, deve-se entender como sendo o DNA circular dupla hélice (ou duplex).

2.3 Como o DNA se Duplica - Duplicação

Para o DNA duplicar-se (ou replicar), há necessidade de uma enzima especial, a DNA polimerase. Estando presente essa enzima, ocorrem as seguintes etapas:

1. As pontes de hidrogênio que ligam as bases nitrogenadas rompem-se e as duas fitas se afastam;
2. Nucleotídeos de DNA livres, que já existem na célula, encaixam-se nas duas fitas que se afastaram. O encaixe só ocorre se as bases forem complementares (adenina com timina, citosina com guanina);

3. Quando as duas fitas originais tiverem sido completadas por nucleotídeos novos, teremos duas moléculas de DNA idênticas entre si.

Em cada molécula, existe um filamento antigo, que pertencia à molécula-mãe, e um novo, que se formou sobre o antigo. Cada filamento antigo atuou como molde, já que sua seqüência de bases funcionou como “guia” para a produção da fita nova. Chamamos também o processo de duplicação semi-conservativa, já que cada molécula-filha conserva metade da molécula-mãe.

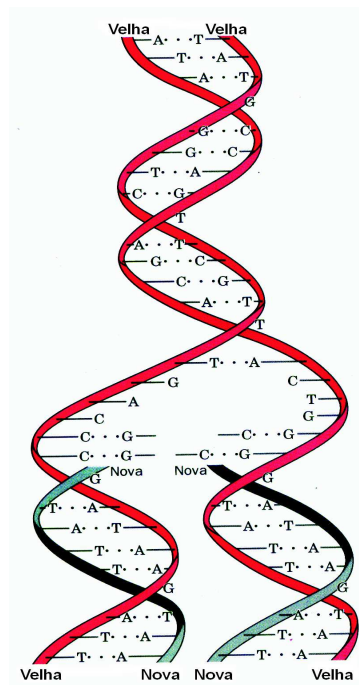


Figura 2.10: Processo da duplicação.

2.4 Como o DNA Fabrica o mRNA - Transcrição

As moléculas de DNA controlam todas as atividades químicas do metabolismo celular. Isso ocorre, na realidade, através do controle que o DNA exerce sobre a fabricação das enzimas, que são proteínas indispensáveis à ocorrência de reações químicas na célula. Cada enzima catalisa um certo tipo de reação, isso significa que existem milhares de enzimas diferentes em cada célula.

De que jeito o DNA controla a produção de enzimas? O DNA produz moléculas de mRNA, que migram para o citoplasma e controlam a construção das proteínas,

1. É necessária a presença de uma enzima: a RNA polimerase;
2. As pontes de hidrogênio se desfazem, as duas fitas de DNA se afastam;
3. Nucleotídeos livres de RNA encaixam-se apenas numa das fitas, chamada **fita ativa**;
4. A molécula de RNA (fita única) destaca-se de seu molde de DNA e migra para o citoplasma;
5. As duas fitas de DNA tornam a parear, reconstituindo a molécula original.

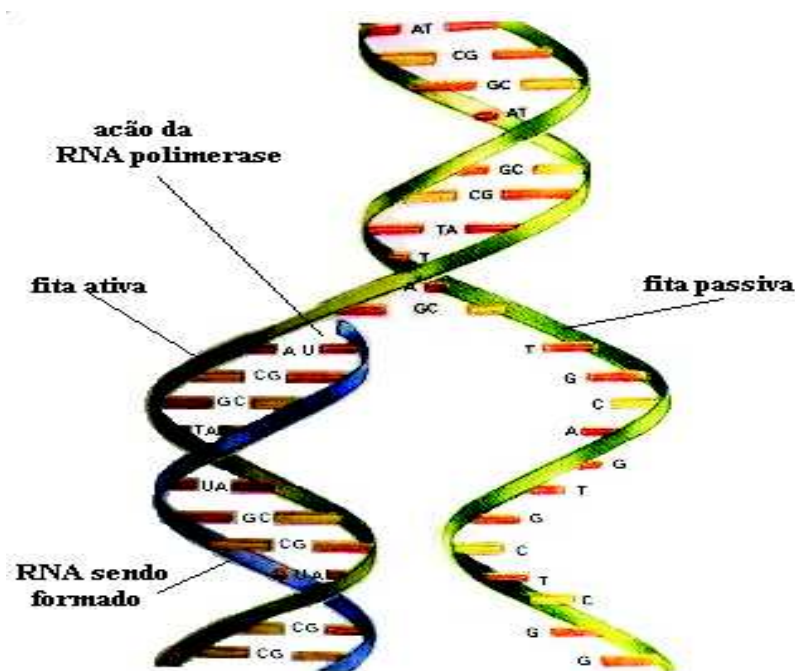


Figura 2.11: Processo da transcrição.

2.5 Síntese de Proteínas - Tradução

2.5.1 O Código genético

O DNA presente no núcleo controla toda a síntese de proteínas da célula. Esse controle é efetuado por meio de moléculas de RNA que o DNA fabrica e que passam para o citoplasma.

Tanto o DNA quanto o RNA, enquanto proteínas, são moléculas grandes constituídas por várias pequenas unidades. Nos três casos (duplicação, transcrição e tradução), a seqüência dessas unidades tem importância fundamental. Há uma relação entre elas: a seqüência de bases do DNA condiciona a seqüência do RNA, e a seqüência do RNA condiciona a seqüência de aminoácidos da proteína. Esse procedimento é ilustrado pela Figura 2.12.

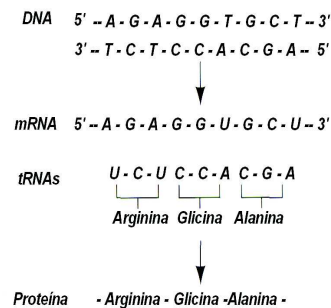


Figura 2.12: Processo de condicionamento.

A correspondência entre o DNA e o RNA ocorre base por base: quando há adenina no DNA, entra uracila no RNA; timina no DNA corresponde à adenina no RNA, e assim por diante.

Na correspondência entre RNA e proteína, cada três bases do RNA codificam um aminoácido específico da proteína. A seqüência GAG no RNA condiciona a colocação do ácido glutâmico. A correspondência entre trincas de bases do DNA, trincas de bases do RNA e aminoácidos chamamos **código genético**. Cada trinca de bases no DNA ou no RNA é denominada **códon**, de fato essas trincas representam “palavras” do código genético, cada “palavra” corresponde a um “objeto”, que seria o aminoácido. Existem 64 possíveis trincas, ou códons, que correspondem a apenas 20 aminoácidos. Assim, é fácil entender que mais de um códon pode corresponder ao mesmo aminoácido.

2.5.2 Tipos de RNA que participam da tradução

1. **RNA_m (RNA mensageiro)**: Trata-se do RNA que leva ao citoplasma a “mensagem genética” do DNA, orientando a síntese de proteínas, já que a sequência de seus códons determina a sequência dos aminoácidos. Para produzir proteínas, o RNA_m se associa aos ribossomos existentes no citoplasma;
2. **RNA_t (RNA transportador ou de transferência)**: É uma molécula relativamente pequena, de aproximadamente 80 nucleotídeos. Apesar de ser também constituída por uma fita única, às vezes se apresenta torcida sobre si mesma. Existem vários tipos de RNA_t, que variam seguindo a sequência das três bases. Os RNA_t's capturam aminoácidos que se encontram dissolvidos no citoplasma, carregando-os para os ribossomos. Cada transportador é específico em relação ao aminoácido que transporta. Essa especificidade é condicionada pela sequência de três bases chamadas anticódons; assim, o RNA_t com o anticódon CAA transporta valina;
3. **RNA_r (RNA ribossômico)**: Trata-se do RNA de fita mais comprida (o RNA_t é o menor deles e o RNA_m geralmente é intermediário entre os outros dois). O papel do RNA_r é estrutural: serve como matéria-prima para a construção dos ribossomos. Eles são indispensáveis para a tradução: sem ribossomos, aparentemente, nunca ocorre síntese de proteínas.

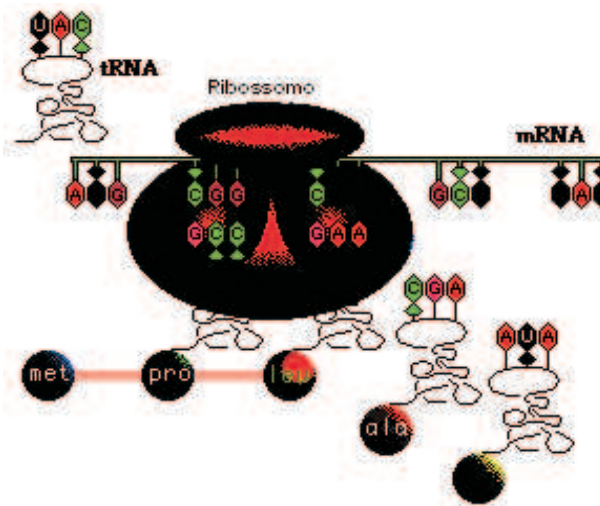


Figura 2.13: Processo da tradução.

2.6 Recombinação do DNA

A recombinação do DNA refere-se a vários processos distintos, durante os quais o material genético é rearranjado, através da quebra da junção de porções da mesma molécula de DNA ou de porções de moléculas diferentes de DNA.

A recombinação também ocorre entre DNAs de diferentes organismos, gerando um novo DNA *composto*. Tanto DNAs procarióticos como eucarióticos sofrem recombinação. Três processos bem caracterizados, tais como, a **recombinação homóloga**, a **recombinação sítio-específica** e a **recombinação transposicional**, encaixam-se nessa descrição geral da recombinação genética. Entretanto, apenas os dois últimos tipos de recombinação são considerados em nosso trabalho, por serem processos menos complexos e mais simples de serem reproduzidos em laboratório do que a recombinação homóloga.

A recombinação cria novas combinações de genes no cromossomo, o que aumenta a chance de sobrevivência de uma população. Esse aumento na diversidade genética não oferece vantagens para indivíduos de uma população. Em vez disso, a sobrevivência individual depende, parcialmente, da operação do reparo do DNA. Contudo, certos tipos de reparo do DNA dependem da recombinação do DNA e, portanto, é possível que a recombinação tenha evoluído como um mecanismo de reparo.

A recombinação mais comum é a do tipo homóloga. Recombinação sítio-específica e transposição são eventos relativamente raros, mas importantes, porque podem controlar a função replicativa em alguns vírus e certos aspectos do desenvolvimento. Recombinação homóloga gera novas combinações de genes, que podem levar à diversidade genética. Mutação e recombinação são as principais abordagens através das quais a célula cria a variação necessária para que ocorra evolução. Além disso, eventos de recombinação estão envolvidos no reparo do DNA. Nos casos em que a lesão no DNA ocorre em sítios complementares, o reparo pode ocorrer apenas através de recombinação.

2.6.1 Recombinação homóloga

A recombinação homóloga produz uma troca entre um par de moléculas distintas de DNA, geralmente duas cópias ligeiramente diferentes do mesmo cromossomo, ou dois segmentos de DNA gerados a partir da mesma molécula de DNA. O requisito principal para que esse processo ocorra é que os DNAs que estão recombinando sejam homólogos. Isso significa que os dois DNAs têm seqüências de bases muito semelhantes numa região extensa, que pode conter milhares de bases.

A recombinação homóloga é bastante complexa e envolve um mecanismo com múltiplas

etapas, catalisado por um grande número de proteínas diferentes.

2.6.2 Recombinação sítio-específica - Integração

Esse tipo de recombinação só requer a presença de seqüências homólogas curtas no DNA. Entretanto, recombinações sítio-específicas só ocorrem em seqüências específicas de DNA, presentes em ambas as moléculas de DNA participantes.

O processo une moléculas de DNAs em locais específicos e é catalisado por enzimas conhecidas como **recombinases**, que reconhecem seqüências específicas curtas (20-200 pares de bases) em ambos os sítios de recombinação. Quando a recombinase liga-se a ambos os sítios de recombinação na molécula de DNA, pode produzir uma inserção de DNA. Um exemplo bem estudado de recombinação sítio-específica é a do fago (λ) de *E. coli*.

Os vírus que nem sempre matam seus hospedeiros são chamados de *temperados* ou *moderados*, dos quais o fago lambda (λ) de *E. coli* é o mais bem entendido. O cromossomo circular (λ) fica integrado a um sítio específico do cromossomo de *E. coli*, assim chamado sítio attB. A integração requer o alinhamento do fago (λ), numa orientação específica, com o cromossomo de *E. coli*. O alinhamento é feito por uma recombinase específica, conhecida como **integrase (Int)**, e com a participação de uma proteína conhecida como **fator de integração do hospedeiro** (IHF, *integration host factor*), codificado pela bactéria. A seqüência básica de attB é simbolizada por B-O-B' (B de bactéria). O local específico de ligação no DNA do fago (λ), chamado sítio attP, está situado próximo aos genes *int* (para “integrar”) e *xis* (para “excisar”). A seqüência de bases attP está simbolizada por P-O-P' (sendo P para fago - em inglês, phage). A letra O (mostrada em amarelo na Figura 2.15) indica as seqüências idênticas nos segmentos que se recombina no fago e na bactéria. A integrase reconhece a seqüência P-O-P' no DNA do fago e a seqüência B-O-B' no DNA de *E. coli*. A enzima corta pontas rombudas com sete nucleotídeos em ambos os filamentos das seqüências O. O IHF serve para dobrar a seqüência P-O-P'. Após todas as quatro cadeias serem cortadas, P junta-se a B' e B junta-se a P' para formar um círculo de DNA dos dois. Este esquema (Figuras 2.14 e 2.15) foi originalmente proposto por Allan Campbell com base em evidências genéticas.

O DNA λ agora é parte da molécula de DNA de *E. coli*. Esta forma de λ é chamada **profago**, e a *E. coli* contendo o profago é chamada de **bactéria lisogênica**.

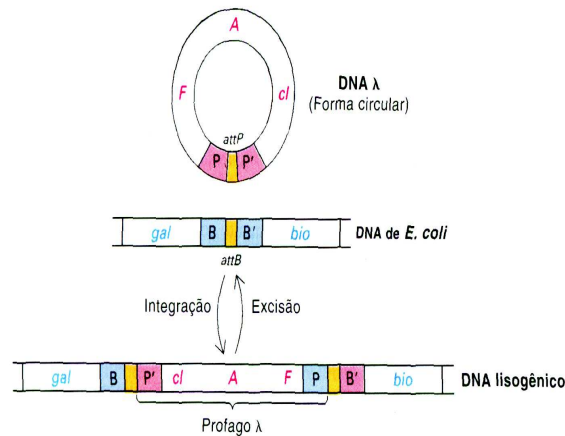


Figura 2.14: Diagrama de uma recombinação recíproca de DNA λ e DNA de *E. coli*. As regiões amarelas marcam seqüências idênticas de 15 unidades (chamadas O) do local bacteriano attB e do local attP do fago .

2.6.3 Recombinação transposicional sítio-específica

A recombinação transposicional sítio-específica, conhecida como transposição, é uma forma de recombinação catalisada por recombinases chamadas **transposases**. Esse tipo de recombinação é melhor entendido em bactérias, mas o DNA de todas as células, incluindo eucariotos como *Drosophila*, milho e levedura, contém segmentos que podem se mover, geralmente com frequências muito baixas, da ordem de 10^{-5} ou 10^{-7} por geração celular, de um sítio *doador* para um sítio *alvo*, num cromossomo. Esses segmentos são conhecidos como **elementos transponíveis (transposons)**.

A transposição difere da recombinação sítio-específica porque não requer uma seqüência específica de DNA no cromossomo *alvo*. Tanto as transposases como as recombinases reconhecem e agem sobre seqüências específicas do DNA. A recombinação de ambos os tipos é responsável pela inserção de vírus, plasmídeos e elementos transponíveis (transposons) no DNA cromossômico. **Transposons** são elementos de DNA que podem se movimentar de uma localização para outra no genoma, tanto em bactérias como em eucariotos e plasmídeos são pequenas moléculas de DNA circulares, com replicação autônoma em uma célula bacteriana ou de levedura.

Três classes de elementos transponíveis, I, II e III, são conhecidas. Os transposons classe I são chamados seqüências de inserção (**IS**) e consistem de um gene que codifica transposase juntamente, é claro, com as repetições que normalmente flanqueiam o ele-

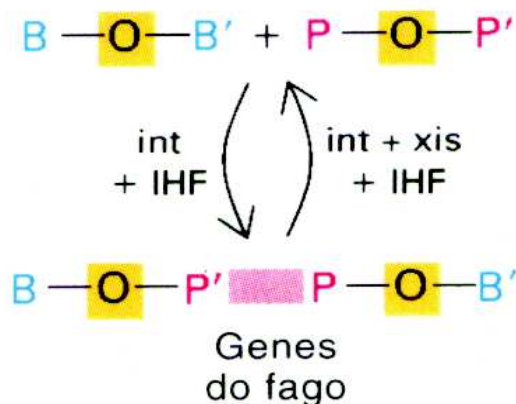


Figura 2.15: Integração e excisão do DNA λ . Int indica integração, e xis indica excisionase. IHF (fator de integração do hospedeiro) é uma proteína do hospedeiro, enquanto int e xis são codificadas por λ .

mento transponível. Elementos IS variam em tamanho, entre 800 e 1300 pb (pares de base).

Quando os transposons da classe I também contém um gene adicional, como um gene que confere resistência a antibiótico à bactéria, são chamados **transposons compostos (Tn)**. Os transposons da classe II diferem dos da classe I porque, além disso, codificam o gene de uma segunda enzima, **resolvase**. Tipicamente, transposons compostos e transposons da classe II têm milhares de pares de bases de comprimento. Finalmente, um pequeno grupo de bacteriófagos, que inserem seu cromossomo no cromossomo do hospedeiro, são classificados como elementos transponíveis classe III.

A transposição começa pela introdução, catalisada por uma transposase, de um corte desencontrado na sequência alvo de DNA. Cortes também são feitos em ambos os lados do transposon, de modo que possa ser levado para o sítio alvo. O reposicionamento deixa uma quebra nas duas fitas, no ponto de onde o transposon foi removido. No sítio alvo, o transposon é introduzido no corte desencontrado, como ilustra a Figura 2.16. Especificamente, 3-12 pares de base do sítio alvo são duplicados pela DNA polimerase I, formando uma repetição curta adicional em cada extremidade do transposon inserido, e o transposon “modificado” é ligado, então, no sítio alvo. Nas transposições das classes II e III, além da duplicação das repetições curtas, o próprio transposon é replicado e uma cópia dele permanece no sítio doador, enquanto a outra cópia é transferida para o sítio alvo. Esse tipo de transposição, chamada **transposição replicativa**, requer a enzima

resolvase e, portanto, não ocorre na transposição da classe I.

A transposição replicativa pode remodelar a estrutura de um cromossomo, mais do que simplesmente mudando um elemento transponível de um lugar para outro. Como esse tipo de transposição coloca duas seqüências homólogas no mesmo cromossomo, recombinação homóloga entre essas duas seqüências pode produzir uma deleção ou uma inserção, dependendo de essas seqüências estarem orientadas na mesma direção ou em direções opostas, como ilustra a Figura 2.17.

Finalmente, a transposição pode inativar um gene por mutação, se um transposon for inserido numa seqüência codificadora e a interromper. Alternativamente, a inserção por transposição de um promotor ou de um ativador de transcrição próximo a um gene pode ativar o gene.

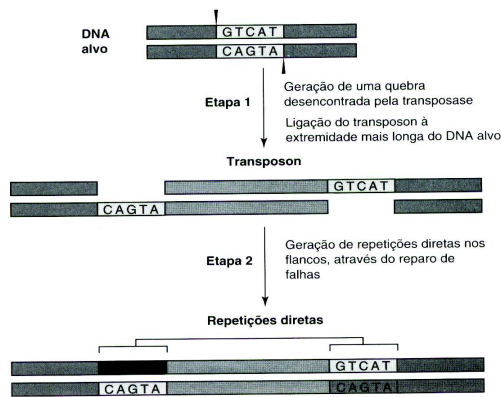


Figura 2.16: Repetições diretas nas extremidades dos transposons.

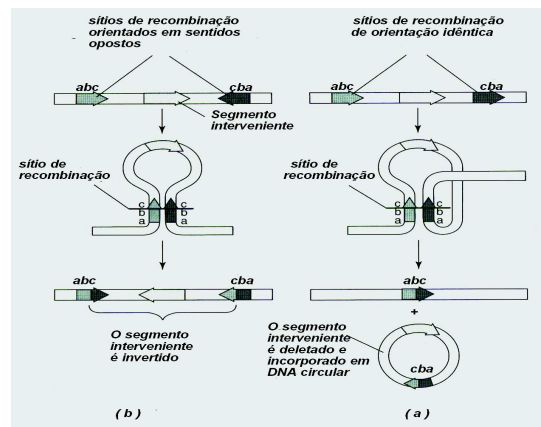


Figura 2.17: Rearranjos genéticos promovidos por transposons.

2.6.4 Correlações clínicas

Nesta subseção, mostramos algumas correlações clínicas que envolvem a recombinação do DNA, que podem ser encontradas na literatura [6]. Com isso, fica evidente a importância e a necessidade de compreender como funciona o mecanismo de recombinação.

- **Transposons e o Desenvolvimento de Resistência a Antibiótico**

Genes que conferem a bactérias resistência a antibióticos usados comumente, como penicilina e tetracilina, estão geralmente presentes em plasmídeos. As seqüências de DNA desses plasmídeos não têm nenhuma homologia com as seqüências do DNA cromossômico do hospedeiro. No entanto, como resultado de transposição, os genes de resistência a antibióticos podem ser transferidos ao cromossomo da bactéria hospedeira. A existência de genes que podem se movimentar de um cromossomo para outro é de grande importância no entendimento de fatores que produzem modificações na organização dos genomas. Do ponto de vista clínico, esses genes “transponíveis” são de importância crítica para o entendimento de como populações de bactérias resistentes a antibióticos surgem com o uso de antibióticos no tratamento de infecções bacterianas no homem e em animais.

- **Os Genes de Imunoglobulinas são Organizados por Recombinação**

Imunoglobulinas (anticorpos) são moléculas que reconhecem e ligam-se especificamente a qualquer substância que o anticorpo identificar como estranha ao corpo humano. Dada a imensa variedade de agentes infecciosos, incluindo milhões de microrganismos presentes no ambiente, o genoma humano, que é equipado com um conjunto limitado de, provavelmente, não mais de 100.000 genes, não tem capacidade para produzir diretamente um número equivalente de anticorpos diferentes, necessários para reconhecer especificamente todos os agentes infecciosos. Essa limitação, inerente ao potencial de codificação genética do genoma humano, é, contudo, contornada pela recombinação, que permite a produção, a partir de uma quantidade limitada de DNA que codifica genes, de um número ilimitado de anticorpos diferentes.

- **Amplificação do DNA e Desenvolvimento de Resistência a Drogas**

Uma limitação importante na eficácia de drogas quimiotóxicas no tratamento do câncer é o desenvolvimento de resistência à droga. Assim, células cancerosas tornam-se resistentes aos medicamentos. Resistência a drogas em células em cultura resulta de amplificação específica de um segmento grande de DNA, que incorpora um gene específico, mas o mecanismo exato pelo qual essa amplificação ocorre não está claro. É provável que a amplificação resulte de recombinação entre seqüências homólogas, orientadas de modo idêntico, que flanqueiam o DNA amplificado. De fato, algumas células resistentes contêm os tipos de DNA amplificado. A amplificação gênica é gradualmente revertida na ausência das drogas, primeiro com o desaparecimento das cópias extracromossômicas. Genes amplificados nos cromossomos, entretanto, persistem por várias gerações, após a remoção da droga. Logo, a amplificação gênica e a resistência que a acompanha estende-se a áreas distantes da clínica médica como, por exemplo, com o desenvolvimento de insetos resistentes a pesticidas.

2.7 Como Ocorre o Processo de Recombinação

A recombinação sítio-específica é uma maneira natural de alterar o código genético de um organismo, seja pelo movimento de um bloco de DNA para outra posição na mesma molécula (**movimento executado pela transposase**), ou pela integração de um bloco de DNA estrangeiro em um genoma hospedeiro (**movimento executado pela integrase**).

Um sítio de recombinação para uma enzima de recombinação sítio-específica, **recombinase**, é um pequeno pedaço de DNA duplex, cujo código é reconhecido pela enzima e um par de sítios, na mesma ou em diferentes moléculas, é justaposto na presença desta. A justaposição dos pares de sítios é o resultado da manipulação enzimática do DNA ou do movimento aleatório térmico, ou ainda de ambos.

Os sítios justapostos são atados pela enzima. Esse estágio da reação é chamado **sinapse**, e o complexo formado pelo substrato junto com a enzima atada é chamado de **complexo sináptico**. Em um único evento de recombinação, a enzima executa uma quebra “fio-duplo” em cada sítio, recombina os finais formando um cruzamento, e então libera a molécula (ou moléculas) resultante. A molécula de DNA não atada pela enzima recombinase antes da recombinação é chamada de **substrato** e depois da recombinação de **produto**.

O processo de recombinação sítio-específica, envolve algumas mudanças topológicas

interessantes no substrato. Para capturar algumas dessas mudanças, criam-se moléculas de substrato de DNA duplex com ambos os sítios na mesma molécula. A sequência linear dos pares de base induz uma orientação local em cada sítio, e a orientação local de cada sítio induz uma orientação global no círculo. Se essas orientações induzidas pelos dois sítios *concordam*, essa configuração é chamada **repetições diretas**, e se *discordam* é chamada **repetições invertidas**.

2.8 Aproximação Topológica para Enzimologia

As moléculas de DNA são finas e longas, e o empacotamento do DNA na célula é muito complexo. Por exemplo, se compararmos o núcleo celular a uma bola de basquete e o DNA a uma fina linha de pescar, teremos aproximadamente 200 Km dessa linha dentro da bola de basquete. O empacotamento, as torções e os confinamentos topológicos, todos juntos, apresentam problemas para as moléculas de DNA no núcleo celular. Esse entrelaçamento interfere nos processos vitais de replicação, transcrição e recombinação.

A solução biológica para esse problema do entrelaçamento, é a existência de enzimas conhecidas como **topoisomerases**, que para mediar esses processos vitais, manipulam o DNA celular de maneiras topologicamente interessantes e não triviais. As topoisomerases agem catalisando, em conjunto, a quebra e a religação das fitas de DNA, que produzem um DNA que é *mais* ou *menos* super-helicoidal do que o original.

Topoisomerases podem ser classificadas como **TOPO I**, que quebram apenas uma fita, e **TOPO II**, que quebram as duas fitas simultaneamente. Enzimas que promovem a recombinação, **as recombinases**, quebram as duas fitas de DNA recombinando-as formando um cruzamento. Para descrevermos e compreendermos o mecanismo das recombinases, necessitamos recorrer à teoria dos Nós e dos tangles (Capítulos 3 e 4).

Um desenvolvimento interessante para a topologia tem sido um novo protocolo experimental, a abordagem topológica para a enzimologia encontrada em [9], que utiliza a Teoria dos Nós para desvendar os segredos das ações enzimáticas. Pode-se deduzir fatos sobre o mecanismo enzimático, detectando uma assinatura topológica da enzima, a mudança que a enzima causa no estado topológico da molécula na qual ela está agindo.

Em muitos casos, o substrato natural para a ação enzimática é um DNA linear, o problema é que não se detecta as mudanças topológicas realizadas pela enzima em um DNA linear. O truque então é, pegar uma enzima particular para agir em uma molécula de DNA circular, para observar quais são as mudanças causadas pela enzima no DNA, esse procedimento é realizado em laboratório, *in vitro*.

Experimentos laboratoriais, que utilizam técnicas como *Gel Agarose* e *Cobertura Rec A*, facilitam a visualização das mudanças geométricas (supertorcimento) e topológicas (tipos de Nós e Catenanes) no substrato. Essas supertorções são variáveis de controle experimental e ajudam nas análises dos produtos da reação. Apresentamos o procedimento desses experimentos laboratoriais que podem ser encontrados em [14]:

1º) Retira-se da célula, uma molécula de DNA circular supertorcido que passa para o estado relaxado, estado com um menor número de cruzamentos, sob a ação de enzimas topoisomerases (TOPO I ou TOPO II) que mudam sua forma topológica, chama-se essa molécula de substrato. A quantidade de supertorções das moléculas é uma variável de controle;

2º) Através da clonagem faz-se várias cópias do substrato, com as quais as recombinases reagem. Quando uma enzima age em um substrato, algumas mudanças enzimáticas podem ser capturadas na forma de Nós e Links de DNA;

3º) Os Nós ou Links possuem carga negativa, devido ao substrato ser naturalmente carregado negativamente, e são colocados na *Agarose Gel* onde uma corrente elétrica é passada, fazendo com que eles se movam para os eletrodos positivos. A velocidade depende da forma, número de cruzamentos ou ligações, e da carga dos Nós ou Links. Quando a corrente é passada através do gel por um certo período, a posição dos Nós ou Links pode ser revelada manchando o gel com uma tinta fluorescente e colocando-o sob uma fonte de radiação ultravioleta, os Nós ou Links aparecem como bandas vermelhas fluorescentes em um fundo preto. O processo da *Agarose Gel*, fraciona a família produto de acordo com os tipos de Nós ou Links;

4º) Usando uma nova técnica biológica, *Cobertura Rec A*, a família produto é retirada do gel e recoberta por uma proteína chamada *Rec A*, que enrijece e engrossa o DNA aumentando o seu diâmetro de 20 para 100 Ângstrons, reduzindo o número de cruzamentos irrelevantes e facilitando a determinação dos cruzamentos nas configurações dos produtos de DNA através do microscópio eletrônico.

Essa nova precisão na determinação de produtos reação, abre a porta para análises matemáticas detalhadas, a construção de modelos topológicos para a ação enzimática.

2.9 Conclusões

Neste capítulo, procuramos apresentar, de maneira sucinta, os principais conceitos biológicos a serem utilizados ao longo deste trabalho.

Iniciamos com a teoria do surgimento da vida, explicando o que é uma célula, a suposição de como ela surgiu, e de que forma a vida se estabeleceu na Terra.

Descrevemos a importância dos nucleotídeos e ácidos nucleicos, mostrando como eles realizam suas funções nas células.

Apresentamos os três tipos de recombinação do DNA, embora nos próximos capítulos, trataremos apenas das recombinações sítio-específica e transposicional, e apresentamos algumas correlações clínicas que envolvem recombinações, nos mostrando a importância de um estudo mais profundo nessa área e a complexidade deste assunto.

Por fim, como ocorre o processo de recombinação e a aproximação topológica para enzimologia usados nos próximos capítulos.

Capítulo 3

Revisão de Conceitos Matemáticos

Neste capítulo, apresentamos alguns dos principais conceitos da álgebra e da topologia que, embora elementares, são fundamentais para a compreensão do trabalho. Na Seção 3.1, definimos frações contínuas, através do algoritmo de Euclides, que permitirá nos Capítulos 4 e 6 ilustrar uma forma elegante da classificação dos tangles racionais. Na Seção 3.2, apresentamos conceitos básicos da teoria dos Nós com o objetivo de mostrar, nos próximos capítulos, como os tangles descrevem a topologia dos Nós e das Catenanes. Finalmente, na Seção 3.3, apresentamos as conclusões deste capítulo.

3.1 Frações Contínuas

Nesta seção, apresentamos o conceito de frações contínuas e também alguns exemplos. O entendimento do conceito de frações contínuas é essencial para a classificação dos tangles racionais (Capítulo 4), que será aplicado na descrição algébrica dos produtos resultantes da recombinação do DNA (Capítulo 6). Estes conceitos podem ser encontrados em [3], [24] e [25].

Definição 3.1.1. *Uma expressão aritmética do tipo*

$$a_1 + \frac{b_2}{a_2 + \frac{b_3}{a_3 + \frac{b_4}{a_4 + \frac{b_5}{\ddots}}}} \quad \text{ou} \quad a_1 + \frac{b_2}{a_2 +} \frac{b_3}{a_3 +} \frac{b_4}{a_4 +} \dots$$

*é chamada **fração contínua** e os números inteiros a_1, a_2, \dots são chamados quocientes parciais. Quando os b_i 's são iguais a 1, então denota-se a **fração contínua** por $[a_1, a_2, \dots]$.*

Observação 3.1.1. *Se o número dos a_i 's for finito, dizemos que a fração contínua é finita, caso contrário dizemos que é infinita; e quando todos os a_i 's são inteiros dizemos que a fração contínua é simples.*

Nesta dissertação será considerado apenas o caso da fração contínua finita, que será associada ao tangle racional no Capítulo 4.

Lema 3.1.1. *(Algoritmo de Euclides). Toda fração contínua $[a_1, a_2, \dots, a_n]$ pode ser transformada em uma única forma canônica $[\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_m]$, onde os β_i 's são inteiros positivos ou inteiros negativos e m é ímpar.*

Exemplo 3.1.1. *Considere $[a_1, a_2, \dots, a_n] = \frac{p}{q}$. Através do algoritmo de Euclides, podemos determinar os a_i 's da seguinte forma:*

1. Vamos obter a fração contínua que representa o número racional $\frac{p}{q} = \frac{79}{28}$:

$$\begin{aligned} 79 &= 2 \times 28 + 23 \\ 28 &= 1 \times 23 + 5 \\ 23 &= 4 \times 5 + 3 \\ 5 &= 1 \times 3 + 2 \\ 3 &= 1 \times 2 + 1 \\ 2 &= 2 \times 1 + 0 \end{aligned}$$

Logo podemos escrever:

$$\begin{aligned} \frac{79}{28} &= 2 + \frac{23}{28} = 2 + \frac{1}{\frac{28}{23}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{5}{23}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{23}{5}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{5}}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{5}{3}}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{1 + \frac{2}{3}}}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{3}{2}}}}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{2}}}}} \end{aligned}$$

Assim, a última igualdade denota a fração contínua associada ao número racional $\frac{79}{28}$. A forma canônica correspondente é $[2, 1, 4, 1, 1, 2]$.

2. Considere a fração contínua representada por $[2, 1, 4, 5, 3]$, isto é,

$$[2, 1, 4, 5, 3] = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{5 + \frac{1}{3}}}}.$$

Então

$$\begin{aligned} &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{5 + \frac{1}{3}}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{16}{3}}}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{16}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{67}{16}}} \\ &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{16}{67}} = 2 + \frac{1}{\frac{83}{67}} \\ &= 2 + \frac{67}{83} = \frac{233}{83}. \end{aligned}$$

Teorema 3.1.1. Se $a_2, \dots, a_n, \dots, b_1, b_2, \dots, b_n, \dots$ são inteiros positivos, então:

1. A fração contínua infinita

$$\frac{b_2}{a_2 +} \frac{b_3}{a_3 +} \frac{b_4}{a_4 +} \dots \frac{b_n}{a_n +} \dots$$

converge para um limite irracional se após algum valor finito de n a condição $a_n \geq b_n$ sempre for satisfeita.

2. A fração contínua infinita

$$\frac{b_2}{a_2 -} \frac{b_3}{a_3 -} \frac{b_4}{a_4 -} \dots \frac{b_n}{a_n -} \dots$$

converge para um limite irracional se após algum valor finito de n a condição $a_n \geq b_n + 1$ é sempre satisfeita onde o sinal $>$ não precisa ocorrer sempre, mas deve ocorrer infinitas vezes.

Como consequência do Teorema 3.1.1, toda fração contínua simples infinita representa um número irracional.

3.2 Elementos da Teoria dos Nós

Nesta seção, apresentamos uma introdução à teoria dos Nós. Nosso objetivo é mostrar como os Nós podem descrever as ações enzimáticas (topoisomerases e recombinases) no DNA, assunto a ser tratado nos Capítulos 5 e 6. Enfatizaremos definições intuitivas que apelam à compreensão geométrica. Um tratamento matemático rigoroso dessa teoria pode ser encontrado em [4], [30] e [31]. Não temos a pretensão de nos aprofundarmos neste assunto no momento, apenas nos deteremos aos conceitos e definições necessários ao entendimento da topologia do DNA.

3.2.1 Nós e isotopias

Nesta subseção, damos uma definição de Nó, Catenane e isotopias.

Definição 3.2.1. (Nó). Um **Nó** é definido como um mergulho de um **círculo elástico fechado** S^1 no espaço Euclidiano tridimensional, \mathbb{R}^3 , ou na esfera tridimensional, S^3 .

Um Nó t será um mergulho (ou uma classe de mergulhos), se a imagem $i(S^1) = t$ for uma curva fechada (ou uma classe de curvas fechadas). Mergulhos de S^K em S^{n+k} podem ser estudados em espaços de dimensões elevadas. Todavia, nos restringiremos apenas ao caso clássico, isto é, o mergulho de S^1 em S^3 .

O Nó mais simples é o Nó trivial e qualquer curva fechada simples é um **Nó trivial**. A Figura 3.1 mostra alguns exemplos de Nós triviais.

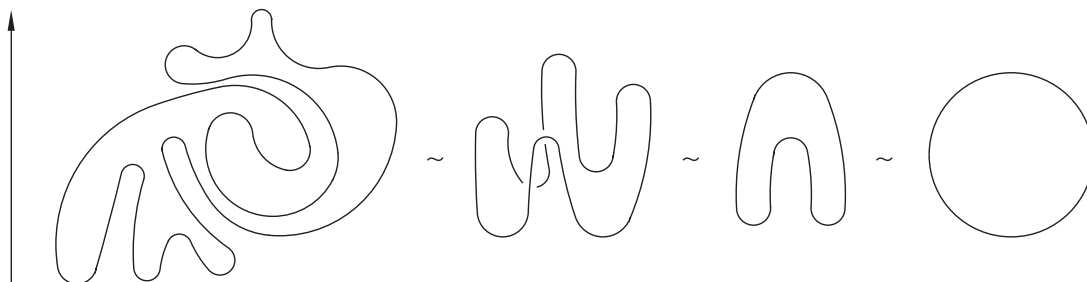


Figura 3.1: Nó trivial.

Definição 3.2.2. (Movimentos isotópicos). Quando deformamos um Nó sem alterar a sua estrutura topológica, ou seja, o Nó é deformado sem que o círculo elástico fechado seja interrompido, dizemos que estamos aplicando movimentos isotópicos neste Nó.

A Figura 3.1, ilustra maneiras diferentes de representar a curva fechada no plano através dos *movimentos isotópicos* aplicados na curva fechada. Esses *movimentos isotópicos* são acompanhados por propriedades homomorfas, garantindo que a curva permaneça fechada.

Um Nó não trivial é uma curva fechada com auto-interseções, como ilustra a Figura 3.2. Note nesta figura que um trecho de curva passando por cima de um outro trecho será representado pela "linha contínua" enquanto a que passa por baixo será por uma "quebra na linha".

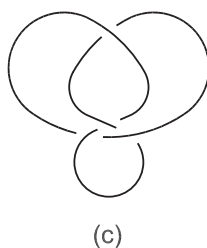


Figura 3.2: Nó não trivial.

Definição 3.2.3. (*Catenane ou Link*). Uma ***Catenane ou Link*** é a composição de dois ou mais círculos (formato de um elo) no espaço tridimensional, Figura 3.3.

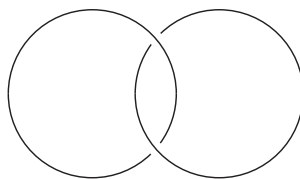


Figura 3.3: Catenane ou link.

Uma ***Catenane trivial*** consiste de dois círculos fechados sem interseção. Não existe entrelaçamento topológico (intracircular e intercircular) na Catenane trivial, como ilustra a Figura 3.4.

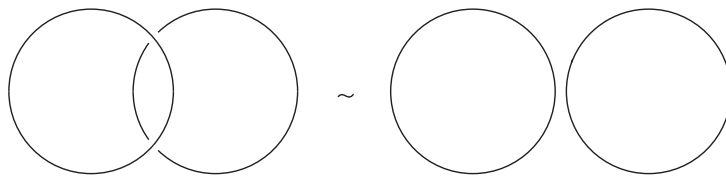


Figura 3.4: Catenane trivial.

Definição 3.2.4. (*Catenane dimérica não trivial*). Uma Catenane dimérica não trivial é um par de círculos que não pode ser separado espacialmente, Figura 3.5.

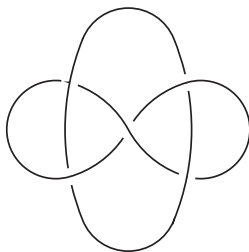


Figura 3.5: Catenane não trivial.

Ao longo deste trabalho, o nosso interesse se concentrará nas Catenanes diméricas (com duas componentes), devido à sua importância biológica.

O problema essencial com um Nó (Catenane), está em como deformá-lo topologicamente sem quebrar seus elos de ligação. Isto é, como podemos desatar esse Nó? Como desfazer alguns cruzamentos sem danificar o Nó? A solução topológica para tal problema, é a aplicação de *movimentos isotópicos* no Nó também chamados de *mergulhos isotópicos*. Aplicar *movimentos isotópicos* em Nós triviais é muito simples, conforme ilustramos na Figura 3.1, o complicado é fazer o mesmo em Nós não triviais, exigindo assim um padrão de movimentos que preserve a estrutura topológica do Nó bem como a estrutura algébrica, esta, com relação a equivalência desses Nós. Os *movimentos isotópicos* conhecidos, são os ***movimentos de Reidemeister***, [1]. Esses movimentos são denominados ***isotopia regular*** e ***isotopia ambiente***, veja Figura 3.6. A aplicação destes movimentos tem por objetivo deformar o Nó sem alterar a sua estrutura topológica.

Definição 3.2.5. (*Movimentos de Reidemeister*). Dois Nós são ditos equivalentes,

se a partir de um deles existir uma sequência finita de movimentos de Reidemeister $\Omega_i = 1, 2, 3$ ou seus inversos Ω_i^{-1} , que conduza ao outro.

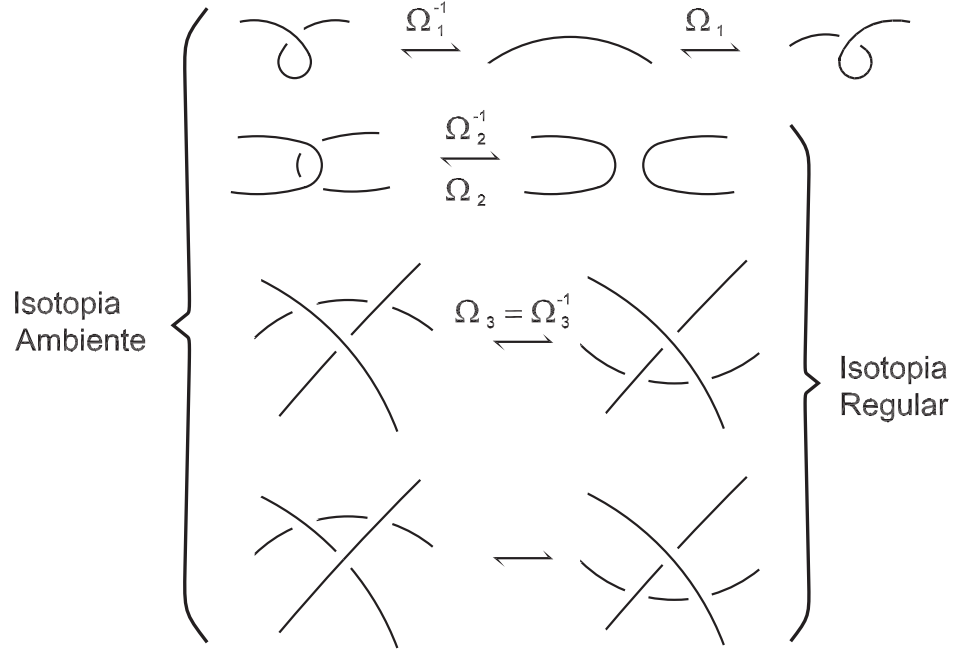


Figura 3.6: Movimentos de Reidemeister

Note na Figura 3.6, que as operações $\Omega_i^{\pm 1}$ mudam o efeito local no diagrama. Evidentemente essas operações podem ser realizadas por uma isotopia ambiente do Nó, por isso, diagramas equivalentes definem Nós equivalentes.

Definição 3.2.6. (Isotopia). A aplicação de movimentos de isotopia em um diagrama Nó, quer dizer que estamos somente aplicando os movimentos $\Omega_i = 2$ e 3 de Reidemeister nesse diagrama Nó, chamado **isotopia regular**.

Definição 3.2.7. (Isotopia ambiente). A aplicação de isotopia ambiente em um diagrama Nó, quer dizer que estamos aplicando todos os movimentos de Reidemeister, $\Omega_i = 1, 2$ e 3, nesse diagrama Nó, chamado **isotopia ambiente**.

Uma isotopia denota a condição limite quando qualquer área, onde ocorre um nosa-mento, pode ser contraída continuamente a um ponto, como ilustrado pela sequência de figuras da Figura 3.7.

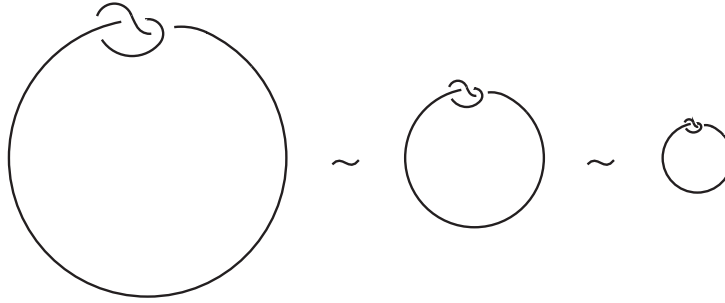


Figura 3.7: Condição limite

3.2.2 Equivalência de Nós

Agora, podemos estabelecer uma definição de um Nó como uma classe de mergulhos $S^1 \hookrightarrow S^3$, respectivamente $S^1 \hookrightarrow \mathbb{R}^3$:

Definição 3.2.8. (*Equivalência*). *Dois Nós são equivalentes se são isotópicos ambientes.*

Um Nó t representa a classe de Nós equivalentes ou a própria classe. Os Nós t e t' são equivalentes, se $t = t'$. t pode significar uma curva poligonal finita fechada simples ou uma classe de tais curvas.

Definição 3.2.9. (*Equivalência de Nós*). *Dois Nós são topologicamente equivalentes (do mesmo tipo) se uma curva pode ser deformada elasticamente até que torne congruente à outra.*

Definição 3.2.10. (*Equivalência de Catenanes*). *Duas Catenanes são topologicamente equivalentes se uma puder ser deformada elasticamente até tornar-se congruente à outra.*

Equivalência elástica significa que pequenas mudanças no círculo (introduzir ou remover uma supertorção solenoidal, por exemplo) não tem efeito no tipo do Nó. Para que possa ocorrer a mudança de um Nó em outro é necessário que a curva fechada com auto-interseções associada a um Nó seja deformada, via outras auto-interseções, no outro Nó. Este é o caso quando da ação da topoisomerase no DNA.

Ocasionalmente iremos escolher uma orientação em S^3 . Desse modo, uma *isotopia ambiente* respeitará a orientação de S^3 .

Definição 3.2.11. (*Nó orientado*). Um Nó ou Catenane é orientado se existe uma direção pré-estabelecida ao longo de cada anel.

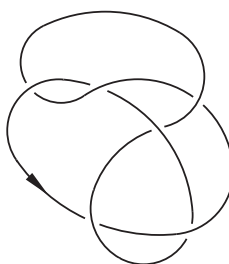


Figura 3.8: Nó orientado.

Matematicamente, podemos escolher uma direção no espaço para a projeção planar, como ilustrado na Figura 3.8. Um ponto de interrupção na projeção é definido como um **cruzamento**. Para reconstruirmos o círculo tridimensional de uma projeção, adotamos a convenção que o segmento que passa por baixo de cada cruzamento é interrompido.

Na definição 3.1.1, não mencionamos a orientação em S^1 ou S^3 . Se S^1 é orientado (Nó orientado) a noção de equivalência tem que ser ajustada:

Definição 3.2.12. (*Equivalência de Nós por isotopia ambiente*). Dois Nós orientados são equivalentes, se existe uma isotopia ambiente conectando-os com respeito a orientação dos Nós.

Proposição 3.2.1. Dois Nós são equivalentes se, e somente, se seus diagramas são equivalentes.

Nós equivalentes podem ser descritos por muitos diagramas diferentes, entretanto todos estão conectados por operações simples. Reidemeister [1], fornece uma introdução elementar à teoria dos Nós enfatizando o aspecto combinatorial.

3.2.3 Projeções Nós

A descrição geométrica de Nós no espaço tridimensional é complicada. A determinação de um Nó é usualmente feita pela *projeção* de t em um plano E (*projeção plana*) em \mathbb{R}^3 .

A projeção de um Nó não determina o Nó (espacial), mas se para todos os pontos duplos em uma projeção regular a linha do cruzamento que está por cima é marcado; o Nó

pode ser reconstruído da projeção. Se o Nó é orientado, a projeção herda sua orientação. A projeção de um Nó com essa informação adicional é chamada *projeção Nó ou diagrama Nó*, conforme ilustra a Figura 3.9. Dois *diagramas Nós* serão considerados iguais se eles são isotópicos em E , onde a isotopia é exigida para os respectivos cruzamentos que estão por cima e por baixo.

Definição 3.2.13. (*Diagrama Nó*). Uma projeção codificada com uma quebra no segmento que passa por baixo de cada cruzamento é definido como um diagrama Nó (*Catenane*).

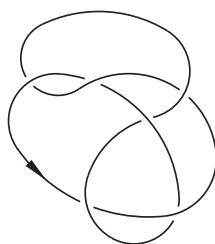


Figura 3.9: Projeção Nó ou diagrama Nó.

Para reconhecer o tipo de cruzamento, positivo ou negativo, no diagrama Nó, é necessário adotar a convenção de sinais em cada cruzamento do diagrama Nó. Fixamos um sinal (+) ou (-) para o cruzamento, de acordo com a convenção adotada, veja Figura 3.10. À convenção do sinal (-) chamamos de rotação horária, e a convenção do sinal (+) chamamos de rotação anti-horária. Esta convenção de sinais também é adotada pelos biólogos na análise do DNA.

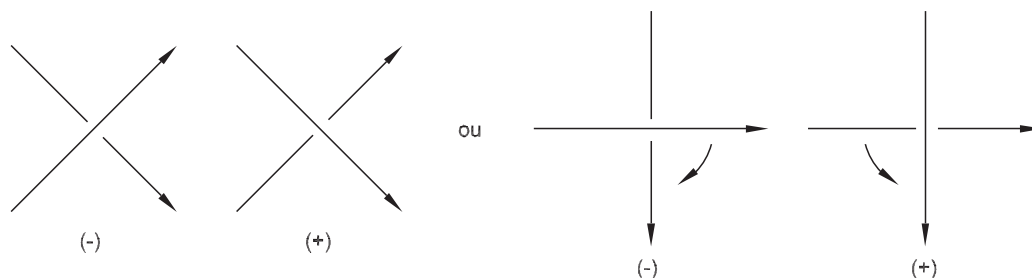


Figura 3.10: Convenção de sinais

3.2.4 Conceitos geométricos

Seja t um Nó orientado no espaço tridimensional \mathbb{R}^3 .

Definição 3.2.14. (*Simetria*). O Nó obtido de t invertendo suas orientações é dito Nó invertido e denotado por $-t$. A imagem refletida de t é denotada por t^* , e é obtida por uma reflexão de t em um plano.

Definição 3.2.15. Um Nó é dito inversível se $t = -t$, e anfiquiral se $t = t^*$.

Definição 3.2.16. (*quiral*) Um Nó é **quiral** se for diferente topologicamente da sua imagem refletida, Figura 3.11.

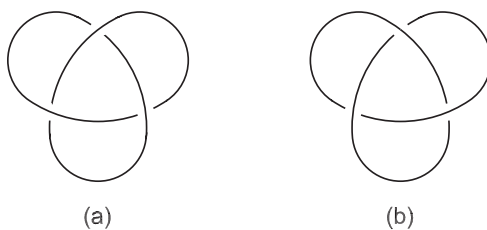


Figura 3.11: (a) é o Nó trefoil $(-)$, e (b) é o Nó trefoil $(+)$. Ambos são quirais e membros mais simples da família toro de Nós.

Definição 3.2.17. (*aquiral*) Um Nó é **aquiral** quando for possível deformá-lo topologicamente em sua imagem refletida, Figura 3.12.

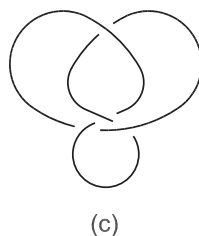


Figura 3.12: Nó aquiral.

Definição 3.2.18. (*Diagramas alternantes*). São diagramas onde todos os cruzamentos encontram-se por cima e por baixo alternam-se em qualquer fio no diagrama, Figura 3.13.

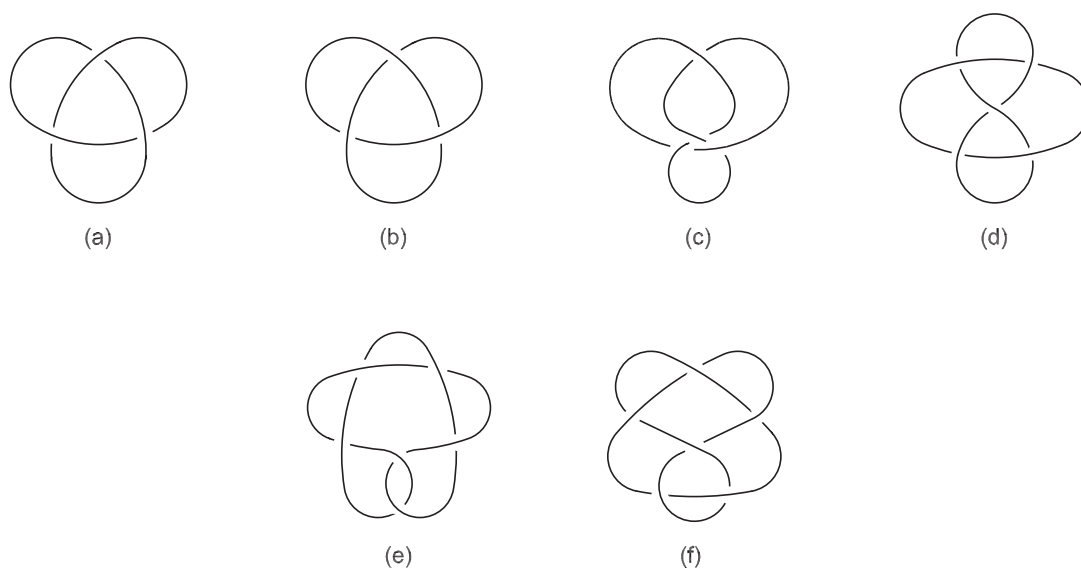


Figura 3.13: Diagramas alternantes.

Definição 3.2.19. (*Nós primos*). Todos os Nós ou Catenanes que não podem ser decompostos em Nós mais simples e estão associados à uma sequência de cruzamentos ao longo do anel chamamos de Nós primos. Um Nó que não é primo, é dito Nó composto. Todos os diagramas ilustrados na Figura 3.13 representam Nós primos.

Embora o tipo de Nó ou Catenane não mude por deformação elástica, todavia a deformação e a escolha da projeção conjuntamente podem mudar o diagrama. A maioria dos tipos de Nós ou Catenanes admitem um número muito grande de diagramas diferentes, onde quase todos possuem cruzamentos removíveis. Tabelas com tipos de Nós e Catenanes podem ser encontrada em [4] e [6].

Por isso, pode ser extremamente difícil determinar se diagramas diferentes representam o mesmo tipo. Sem perda de generalidade, escolhemos um tipo de diagrama sem cruzamentos removíveis.

Definição 3.2.20. (*Diagrama mínimo*). Quando um diagrama não possui cruzamentos removíveis, chamamos de diagrama mínimo.

O número de cruzamentos em um diagrama mínimo é chamado *número de cruzamentos* do Nó (Catenane). Como exemplo temos: o Nó três para o *trefoil* (Figura 3.13 (a) e (b)); o Nó quatro para Nó primo (Figura 3.13 (c) e (d)); e o Nó cinco para o Nó primo (Figura 3.13 (e) e (f)).

O número de cruzamentos é um exemplo da invariância topológica, unicamente determinado pelo tipo de Nó, podendo ser representado: por um polinômio, por uma fração, por um grupo, etc. Nesta dissertação representaremos, nos Capítulos 5 e 6 respectivamente, o tipo de Nó resultante dos produtos de recombinação da molécula de DNA por frações.

3.2.5 Tranças de 4-fios (*4-plats*)

Propostas de novos invariantes (dicriminantes) com o objetivo de distinguir Nós com o mesmo número de cruzamentos, tem sido a concentração e interesse de pesquisa em detrimento da construção de Nós. Para algumas famílias homólogas de Nós e Catenanes, existe um único invariante que classifica cada membro para que dois tipos não tenham o mesmo invariante. Uma particularidade importante de tal família é a das **tranças de 4 fios**, *4-plats*.

Definição 3.2.21. (*4-plats*). *Sejam A e B dois conjuntos disjuntos contendo 4 pontos cada. Cada membro da classe *4-plats* pode ser gerado através do entrelaçamento de 4 fios conectando, uma única vez, cada ponto dos conjuntos A e B entre si. Feito isso, cada ponto no conjunto A e B são conectados entre si.*

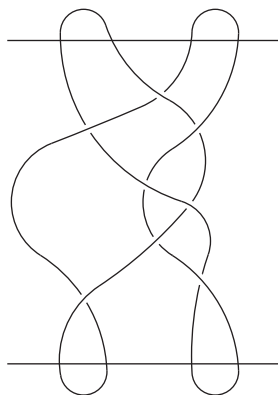


Figura 3.14: Trança de 4 fios, *4-plat*.

Consideraremos essa família por três razões:

- 1.) Nós e Catenanes simples são, usualmente, membros dessa família. Mais precisamente, todos os Nós primos com número de cruzamentos menores que 8 e todas as catenanes diméricas primo com número de cruzamentos menores que 7 são *4-plats*;
- 2.) Existe um esquema de classificação sofisticado para os *4-plats* que codifica o modelo "bobina plectonêmica" dos Nós e Catenanes de uma maneira útil matematicamente e biologicamente, usado extensivamente na análise dos produtos resultantes da recombinação da molécula do DNA [14]-[17];
- 3.) Muitos dos produtos de recombinação, replicação e ação topoisomerase no DNA circular pertencem à família das **tranças de 4 fios**.

Definição 3.2.22. (*Trança*). *Uma trança é formada por n pontos arranjados em planos paralelos, atando os fios nesses pontos assim que os planos paralelos interceptem os fios em n pontos, Figura 3.15*

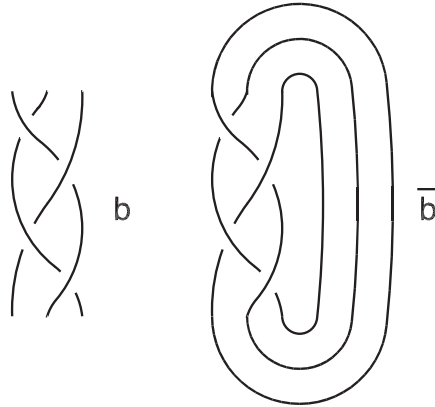


Figura 3.15: Uma trança de três fios $b \in B_3$, onde B_3 denota o grupo das tranças de 3 fios. O fechamento \bar{b} de uma trança de b é obtido ligando os pontos iniciais aos pontos finais por uma coleção de fios paralelos.

Definição 3.2.23. (*Tranças equivalentes*). *Duas tranças em B_n são equivalentes, denotadas por $b = b'$, se existe uma isotopia ambiente de b para b' que preserva os pontos*

finais fixos e não mova qualquer fio exterior ao espaço entre os planos superior e inferior das tranças, Figura 3.16.

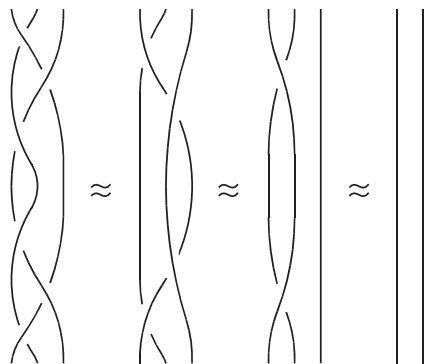


Figura 3.16: Equivalência de tranças.

Uma trança pode ser fechada com relação a um eixo h , como mostra a Figura 3.17. Dessa maneira, toda trança $\tilde{\mathfrak{D}}$ define uma trança fechada $\hat{\mathfrak{D}}$ que representa uma Catenane com μ componentes, onde μ é o número de círculos de permutações de $\tilde{\mathfrak{D}}$. Toda Catenane pode ser representada por uma trança fechada. Essa representação está relacionada a uma outra notação introduzida por Schubert [4] e [26]: o número de pontes de um Nó.

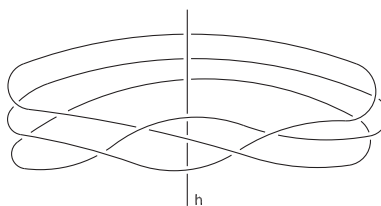


Figura 3.17: Trança fechada.

Definição 3.2.24. (Número-ponte). *Seja t um Nó (Catenane) em \mathbb{R}^3 que encontra um plano $E \subset \mathbb{R}^3$ em $2m$ pontos tais que os arcos de t em cada meio espaço relativo a E possui projeção ortogonal em E que são simples e desconectados. (t, E) é chamado uma representação **m-ponte** de t ; o número mínimo m possível para um Nó t é chamado **número-ponte**.*

Uma $2m$ -trança completada por $2m$ arcos simples resulta em uma Catenane chamada $2m$ -plat. Uma m -trança fechada obviamente é um $2m$ -plat especial. Assim, toda Catenane pode ser representada por um plat, conforme ilustra a Figura 3.18.

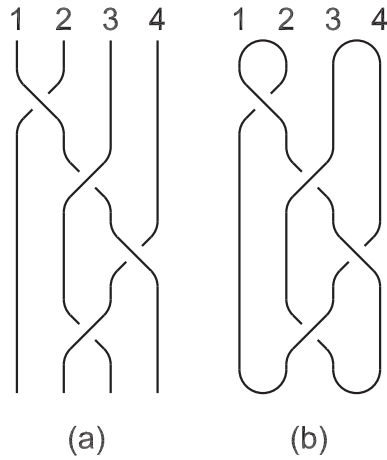


Figura 3.18: (a) Construção de uma trança de 4 fios. (b) Conversão de uma trança de 4 fios em um 4-plat.

A Figura 3.18 ilustra como a família dos Nós e Catenanes 4-plat é gerada usando uma trança de 4 fios. Os quatro fios verticais são numerados de 1 a 4, da esquerda para direita, uma forma de interconexão plectonêmica de fios adjacentes, como ilustra a Figura 3.18 (a). Depois de completar a trança, o fio 1 conecta com o fio 2 e o fio 3 com o fio 4, de cima para baixo, como ilustra a Figura 3.18 (b). Dependendo do padrão de entrelaçamento, obtemos um círculo (um Nó) ou dois círculos (uma Catenane dimérica).

Existe um número infinito de diagramas 4-plat para cada Nó ou Catenane 4-plat. No entanto, todo 4-plat possui no máximo dois diagramas canônicos. As Figuras 3.19, 3.20 e 3.21 ilustram respectivamente, diagramas 4-plat canônicos dos Nós e Catenanes ilustrados na Figura 3.13, e as legendas indicam como esses diagramas são gerados.

Representamos, simbolicamente, um diagrama 4-plat canônico por um vetor, isto é, um arranjo ordenado de inteiros positivos de comprimento ímpar $\langle c_1, c_2, \dots, c_{2n+1} \rangle$ delimitado por colchetes. Cada vetor caracteriza uma descrição única para o diagrama 4-plat que representa. Nas Figuras 3.19, 3.20 e 3.21, ilustramos o significado da noção de vetor usando o diagrama canônico. A utilidade da forma canônica na representação por vetores está na facilidade em decidir se dois 4-plats são equivalentes ou não.

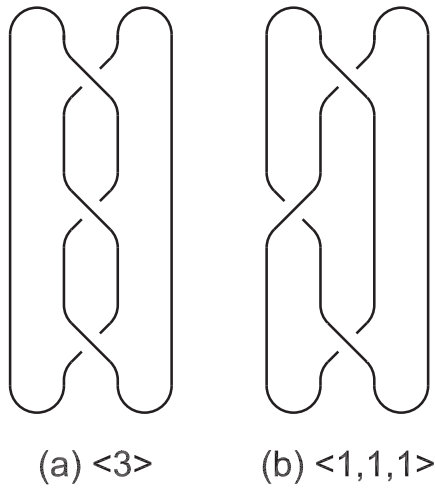


Figura 3.19: Trefoil (-) e (+).

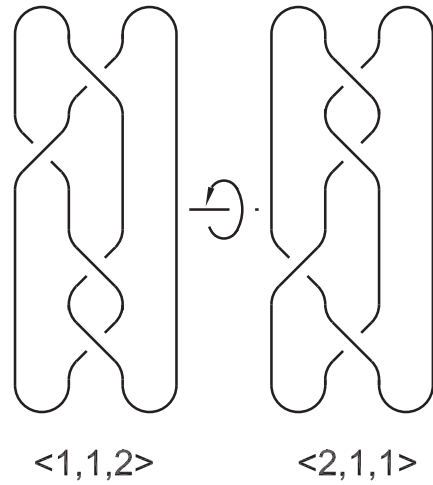


Figura 3.20: Nó figura-8.

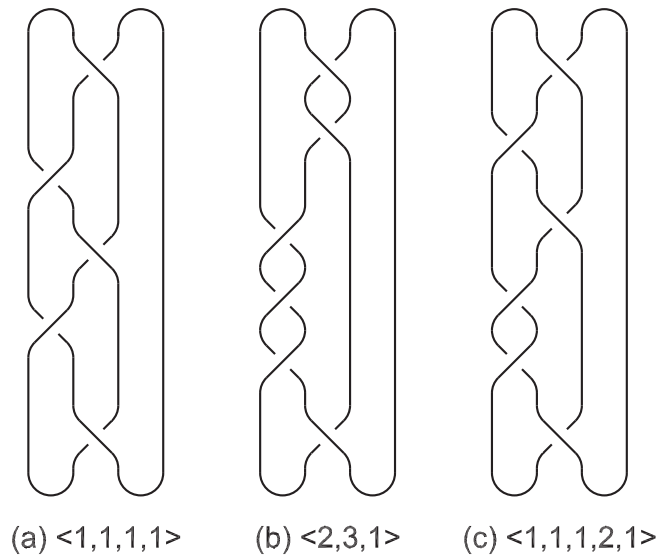


Figura 3.21: Catenane figura-8.

3.3 Conclusões

Neste capítulo procuramos apresentar os principais conceitos e definições a serem utilizados ao longo deste trabalho, com o objetivo de facilitar o entendimento da recombinação sítio-específica através de uma linguagem matemática apropriada.

Inicialmente, definimos frações contínuas, e, através do algoritmo de Euclides apre-

sentamos sua forma canônica, que utilizaremos na classificação dos tangles racionais nos Capítulos 4,5 e 6.

Em seguida, apresentamos uma introdução à teoria dos Nós de maneira intuitiva com o objetivo de facilitar e compreendermos a topologia do DNA, ou seja facilitar o entendimento da aproximação enzimológica a topologia.

Capítulo 4

Classificação dos Tangles Racionais

Neste capítulo, apresentamos os conceitos e propriedades essenciais a serem utilizados na recombinação da molécula de DNA (Capítulo 6). Apresentamos uma descrição combinatorial da classificação de tangles racionais, usando os conceitos de frações contínuas [23]-[26].

Este capítulo está organizado da seguinte forma. Na Seção 4.1, apresentamos de forma sucinta, uma introdução à história dos tangles e Nós racionais e sua importância. Na Seção 4.2, definimos o conceito de (m,n) -tangle e de tangle com dois arcos, *2-tangles*. Na Seção 4.3, descrevemos tangles racionais e suas operações. Na Seção 4.4 apresentamos os tangles racionais na forma torção, padrão, fração contínua e canônica. Na Seção 4.5 fazemos uma analogia entre frações contínuas e tangles racionais e a classificação dos tangles racionais através do Teorema de Conway. Na Seção 4.6, apresentamos as conclusões deste capítulo.

4.1 Tangles e Nós Racionais

4.1.1 Um pouco de história dos tangles e Nós racionais

Nós e Catenanes racionais foram primeiramente considerados por O. Simony em 1882, [2], [4] e [26]. Simony foi o primeiro a relacionar Nós às frações contínuas. Reidemeister em 1929 [1], calculou o grupo Nó de uma classe especial de Nós racionais (o Viergeflechte), mas os Nós racionais foram realmente estudados por Goeritz, Bankwitz e Schumann em 1934 [25], representados como numeradores das tranças de 4 fios (*braids*). Schubert em 1956 [2], [4] e [26], classificou os Nós racionais através da forma canônica e representou-os como Nós de 2 pontes (*2-bridge*). Essas provas foram baseadas nas observações de Seifert [25], onde as coberturas ramificadas em uma variedade bidimensional de Nós *2-bridge* dão

origem aos espaços lenticulares. Só então, o Teorema de Schubert foi reformulado por Conway [2] nos termos de tangles racionais.

John H. Conway em 1970 [2], introduziu a noção de um tangle, definiu a fração e o tangle racional através do conceito de fração contínua. Também definiu um invariante topológico para um *2-tangle* R arbitrário, usando o polinômio de Alexander chamado de numerador de R e denotado por $N(R)$ e o denominador de R , $D(R)$, isto é, $F(R) := \frac{\Delta(N(R))}{\Delta(D(R))}$. Foi o primeiro a interpretar a relação entre a teoria elementar dos números e frações contínuas, e a topologia de tangles racionais e Nós e Catenanes racionais. Kauffman e Lambropoulou em 2002, [23]-[26], apresentaram uma prova combinatorial da classificação de tangles racionais usando os conceitos das frações contínuas. Neste capítulo nos concentraremos nos trabalhos de Kauffman e Lambropoulou.

4.1.2 Importância dos tangles e Nós racionais

Nós e Catenanes racionais conhecidos na literatura como *4-plats*, *Viergefleche* e Nós *2-bridge*, formam uma classe de Catenanes alternantes de uma ou duas componentes sendo **os Nós mais fáceis de se fabricar**, mesmo naturalmente. Dentre os Nós racionais já catalogados (os primeiros vinte e cinco nós), existente na ordem de ± 850 projeções planares de Nós que podem ser utilizadas tanto na enzimologia, comparadas aos produtos resultantes de recombinação do DNA, quanto em outros modelos que exigem o mesmo rigor matemático. Os **primeiros vinte e cinco Nós**, exceto o Nó 8_5 **são racionais**. Além disso, **todos os Nós até dez cruzamentos são racionais** ou obtidos de **Nós racionais por operações simples**, [4] e [6].

Tangles racionais constituem uma classe especial de *2-tangle*, $T_{(2,2)}$, por apresentarem as seguintes propriedades: simetria dos seus pontos terminais; por satisfazerem a propriedade de fechamento sob as operações tangles; e por darem origem a dois Nós: numerador $N(T)$ e denominador $D(T)$, sob a operação de fechamento quando aplicada a dois caminhos diferentes. Podemos dizer que os tangles racionais formam uma base para a classificação de Nós [24]-[26]. Estes por sua vez são obtidos tomando os numeradores fechados de tangles racionais, e tangles racionais diferentes podem produzir o mesmo Nó racional. Nós racionais dão origem aos espaços lenticulares através da teoria das coberturas ramificadas (Nós toro, Nós primos, e complemento do Nó) [15], [5].

Os tangles e Nós racionais são de importância fundamental no estudo da recombinação sítio-específica do DNA. As informações (com relação ao posicionamento e movimento dos arcos) contidas nos tangles racionais nos permitirá, através de um de seus invariantes topológicos (fração do tangle), reduzir o número de possibilidades de produtos de

recombinação. Quando isso não é possível, a metodologia enumera todos os mecanismos possíveis que poderiam gerar os produtos observados. Os tangles não são apenas úteis para demonstrações e cálculos, mas dão informações qualitativas de recombinação através dos diagramas tangles. Os tangles fornecem uma descrição matemática acessível e ao mesmo tempo geral da recombinação sítio-específica, e mudanças topológicas associadas que permitem definições da estrutura do substrato e do produto do DNA.

Tratamento de vários aspectos de tangles racionais podem ser encontrados em [2], [4], [14]-[26]. Ver também [5], sobre a relação de tangles racionais, teoria das coberturas ramificadas e cirurgia *Dehn* (cirurgia de tangles).

4.2 Tangles

Nesta seção, apresentamos uma definição de tangles e os três tipos de tangles que compreendem a classe especial dos tangles com dois arcos $T_{(2,2)}$, *2-tangles*.

Tangle é o mergulho de uma coleção finita de arcos e círculos no espaço Euclidiano tridimensional, que possui os pontos terminais fixos. Os tangles são conhecidos na teoria de Conway [2] como classes de tangles $T_{(m,n)}$, (m,n) -tangles. Assim,

Definição 4.2.1. ((m,n) -tangle). Um (m,n) -tangle é um mergulho de uma coleção finita de arcos e círculos em \mathbb{R}^3 , tal que os pontos terminais dos arcos formam um conjunto específico de $m + n$ pontos na superfície de uma bola B^3 mergulhada em S^3 .

Dividimos a bola tridimensional (3D) imaginária em hemisfério Norte e Sul, os m pontos situam-se no hemisfério norte enquanto os n pontos no hemisfério sul. Os círculos e a parte interna dos arcos estão mergulhados no interior dessa bola, e podem ser movimentados por *isotopia ambiente*, (Subseção 3.2.1 do Capítulo 3), porém com os $m + n$ pontos terminais fixados. Por simplicidade e também devido ao modelo a ser utilizado, consideraremos $m = n = 2$ conduzindo ao *2-tangle*. Nesta configuração, os quatro pontos terminais fixos serão representados por: $P = \{NE, SE, SW, NW\}$, conforme mostra a Figura 4.1.

Os *2-tangles* podem ser orientados de várias maneiras com relação a orientação de cada arco e círculo. Na Figura 4.2 descrevemos as possíveis orientações de tangles com dois arcos. Nesta dissertação estaremos seguindo a orientação especificada no tangle da primeira linha e coluna (esquerda), respectivamente ilustrado na Figura 4.2.

Definição 4.2.2. Um n -tangle é orientado se atribuirmos orientações para cada arco e cada círculo.

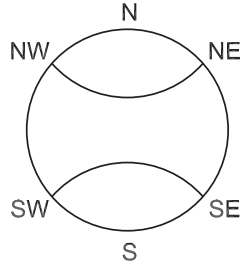


Figura 4.1: 2 -tangle.

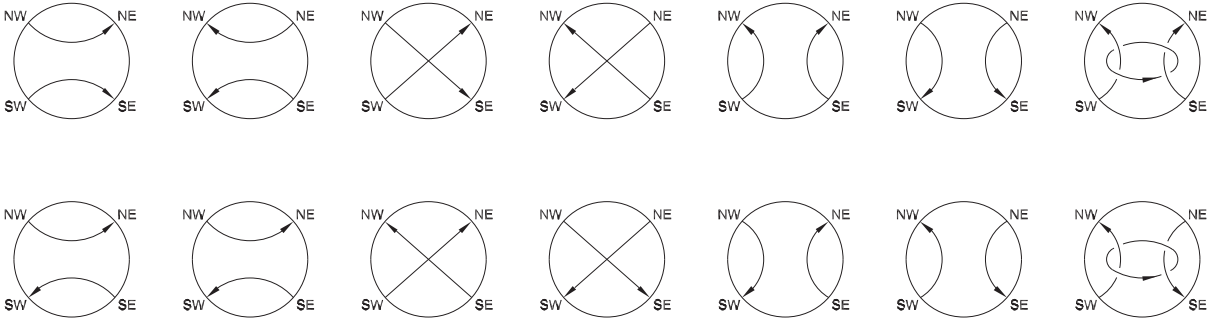


Figura 4.2: Tipos de orientação para tangles com dois arcos.

Nós e Catenanes são conhecidos como 0 -tangle, enquanto que as tranças em n fios formam a maioria da classe dos n -tangles. Quando não especificamos a orientação do tangle, dizemos que todo ambiente da variedade tridimensional será orientado, e o ambiente 1-sub-variedade não será orientado. Assumimos que todos os homomorfismos dos espaços ambiente preservam a orientação. Ao descrevermos um tangle, estamos nos referindo ao diagrama tangle regular, isto é

Definição 4.2.3. (Diagrama tangle). Um **diagrama** de um (m,n) -tangle é uma **projeção regular** do tangle tridimensional no plano.

Pela Definição 4.2.1, o número total de arcos livres deve ser par, e sem perda da generalidade, os $m + n$ pontos terminais do tangle podem ser arranjados em um grande círculo na esfera.

Definição 4.2.4. (2 -tangle). Um tangle formado por um par de arcos, **2 -tangle**, consiste do par (B, t) onde B é uma bola tridimensional e t é um par de arcos (não orientados) mergulhados em B .

Observação 4.2.1. *Os 2-tangles podem ser ou não racionais.*

4.2.1 Tipos de tangles

Nesta subseção apresentamos três tipos de tangles possuindo a mesma simetria, com os quatro pontos equatoriais imaginários distintos: $P=\{NE, SE, SW, NW\}$ ilustrados através da Figura 4.3, da seguinte maneira:

- 1.) **Tangle racional:** O tangle racional é o resultado de consecutivas torções dos pontos terminais vizinhos de dois arcos que não estão conectados.
- 2.) **Tangle localmente nosado:** Um tangle é localmente nosado se existe um nó local em um dos arcos.
- 3.) **Tangle primo:** Um tangle é primo se esse tangle não é racional e nem localmente nosado.

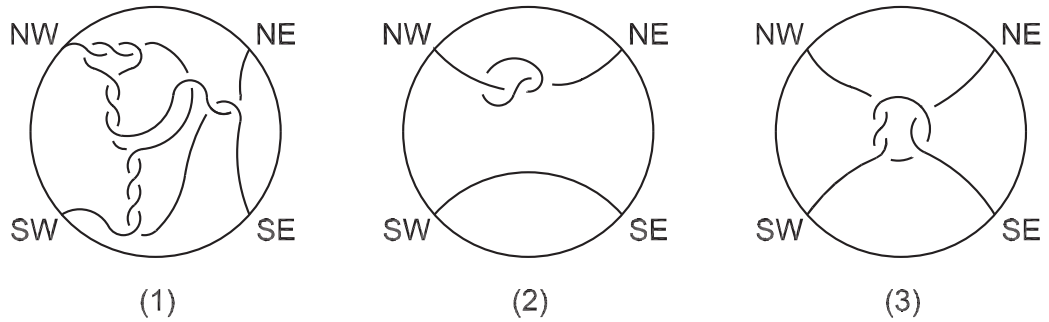


Figura 4.3: (1)tangle racional, (2)tangle localmente nosado e (3)tangle primo.

Na topologia do DNA, Ernest e Sumners [14] e [15], consideraram a enzima atada ao DNA como sendo uma bola tridimensional, e os fios do DNA em que a enzima está atada, como arcos mergulhados na bola tridimensional, isto quer dizer que produtos resultantes da recombinação do DNA em [8] e [9] foram comparados aos tangles racional, localmente nosado e primo. Dessa forma, fizeram uma analogia entre a topologia do DNA e a teoria dos tangles, mais precisamente com uma classe especial dos *2-tangles* denominada tangles racionais, a ser visto em detalhes nos Capítulos 5 e 6. A comparação da enzima atada ao DNA com os tangles racionais, acontece em virtude da possibilidade da aplicação de

movimentos isotópicos nos tangles racionais desfazendo cruzamentos sem quebrar os elos de ligação dos arcos. O mesmo não acontece com o tangle localmente nosado e o tangle primo. Até onde é de nosso conhecimento, não existe a possibilidade da aplicação de movimentos isotópicos nesses tangles, devido a existência de cruzamentos locais que não são desfeitos [15].

4.3 Tangles Racionais

Nesta seção, primeiramente definimos o conceito de tangles racionais. Em seguida, apresentamos os tangles racionais mais simples e descrevemos a construção de tangles racionais. Finalmente, mostramos as operações de adição, multiplicação, imagem refletida, rotação e inversão de *2-tangles* e a operação fechamento de tangles racionais operações estas utilizadas na classificação dos Nós racionais.

Como vimos, um *2-tangle* é um par (B, t) , onde B é uma bola 3D e t é um par de arcos próprios mergulhados (não orientados) em B . Dessa forma, dizemos que um tangle é racional se existir um homomorfismo dos pares de (B, t) para o tangle trivial $(D^2 \times I, \{x, y\} \times I)$, onde D^2 é uma bola unitária 2D em \mathbb{R}^2 e $\{x, y\}$ são pontos interiores de D^2 . Então,

Definição 4.3.1. (*Tangle racional*). *Seja t um par de arcos não orientados propriamente mergulhados na bola tridimensional. Um 2-tangle é racional se existir uma orientação preservando o homomorfismo dos pares:*

$$h : (B^3, t) \rightarrow (D^2 \times I, \{x, y\} \times I) \quad (\text{tangle trivial})$$

A Definição 4.3.1, é equivalente a dizer que os tangles racionais podem ser obtidos através da aplicação de um número finito de torções consecutivas dos pontos terminais resultando nos **tangles triviais** $[0]$ ou $[\infty]$.

Como é desejável que Nós e tangles racionais apresentem uma estrutura algébrica bem definida, então é necessário utilizar mapeamentos entre as correspondentes estruturas algébricas via *homomorfismos*.

Definição 4.3.2. *Considere dois grupos quaisquer G e G' e a função (ou mapeamento)*

$\phi : G \longrightarrow G'$. Dizemos que ϕ é um **homomorfismo** de G em G' se

$$\phi(ab) = \phi(a)\phi(b)$$

para todo $a, b \in G$. (Note que o produto ab ocorre em G , enquanto que o produto $\phi(a)\phi(b)$ ocorre em G').

Definição 4.3.3. Um **isomorfismo** de G em G' é um homomorfismo onde a função $\phi : G \longrightarrow G'$ é bijetora. Dizemos que G e G' são isomorfos e escrevemos $G \cong G'$.

Chamamos de **automorfismo** um isomorfismo de G em G e escrevemos $\text{Aut}(G)$.

4.3.1 Tangles racionais mais simples

Os tangles racionais mais simples são os **tangles triviais**, isto é, o tangle zero, **0-tangle**, e o tangle infinito, **∞ -tangle**, denotados por $[0]$ e $[\infty]$ respectivamente, ilustrados na Figura 4.4.

Definição 4.3.4. (Tangles triviais). Um tangle é trivial quando for formado por dois arcos não ligados tanto na horizontal quanto na vertical, ou seja, não existe torções dos arcos nesses tangles.

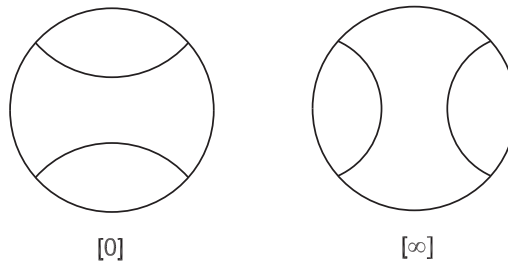


Figura 4.4: $[0]$ -tangle e $[\infty]$ -tangle.

Os tangles racionais $[+1]$ e $[-1]$ também são considerados como tangles simples. Portanto, consideraremos como tangles racionais mais simples, os tangles: $[0]$, $[\infty]$, $[+1]$ e $[-1]$, como mostra a Figura 4.5.

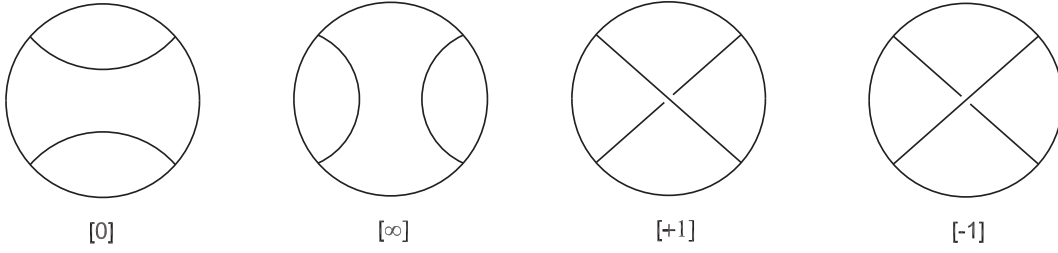


Figura 4.5: Tangles racionais: $[0]$, $[\infty]$, $[-1]$ e $[+1]$.

Antes de iniciarmos a construção dos tangles racionais, é necessário entendermos como é feita a convenção de sinais para cada cruzamento dos arcos no tangle, como mostra a Figura 4.6.

Definição 4.3.5. (*Cruzamento*). *O local onde ocorre a torção entre os arcos, chamamos de cruzamento. Os cruzamentos dos 2-tangles e dos Nós são do tipo: positivo ou negativo. Por convenção fixamos um sinal (+) ou (-) para o cruzamento. A convenção do sinal (-) chamamos de rotação horária, e a convenção do sinal (+) chamamos de rotação anti-horária.*

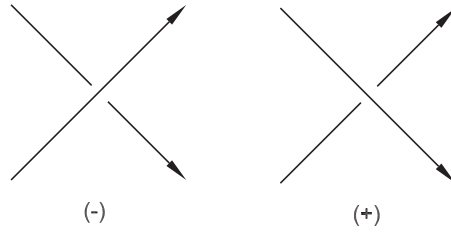


Figura 4.6: Cruzamento do tipo $(-)$ e do tipo $(+)$.

4.3.2 Construção de tangles racionais

Conway, pensou na construção de tangles racionais como blocos de construção básica para a construção de Nós, [2]. A construção dos Nós é o resultado de consecutivas torções horizontais ou verticais aplicadas nos tangles triviais, $[0]$ ou $[\infty]$. As Figuras 4.7 e 4.8 ilustram torções horizontais e verticais denominadas, respectivamente, tangles inteiros e tangles verticais.

Definição 4.3.6. (*Tangles inteiros*). Um **tangle** é chamado **inteiro** se for construído a partir do tangle zero, 0-tangle, por consecutivas **torções horizontais**, $[n]$.

- Tangles inteiros: $[n] \longrightarrow$ torções horizontais, $n \in \mathbb{Z}$.



Figura 4.7: Tangles inteiros.

Definição 4.3.7. (*Tangles verticais*). Um **tangle** é chamado **vertical** se for construído a partir do tangle infinito, ∞ -tangle, por consecutivas **torções verticais**, $\frac{1}{[n]}$.

- Tangles verticais: $\frac{1}{[n]} \longrightarrow$ torções verticais, $n \in \mathbb{Z}$.

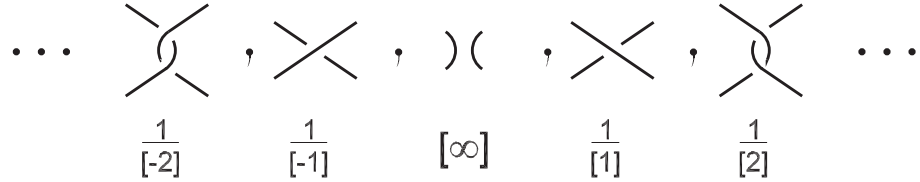


Figura 4.8: Tangles verticais.

Uma vez definido os tangles triviais, inteiros e verticais, e adotada a convenção de sinais (+) ou (−) para os cruzamentos das torções dos tangles, podemos então iniciar a construção de tangles a partir dos tangles triviais, vide Figura 4.9, da seguinte forma:

- 1º) Iniciamos com dois arcos horizontais ou verticais;
- 2º) Escolhemos dois pontos terminais e torcemo-os;
- 3º) Escolhemos outro par de arcos e torcemo-os um número finito de torções, e assim sucessivamente.

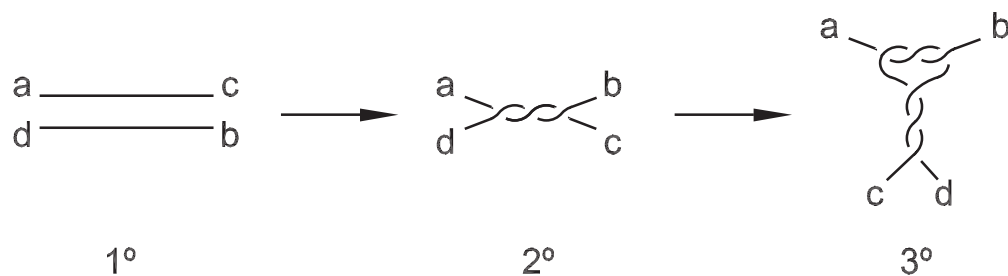


Figura 4.9: Construção de tangles.

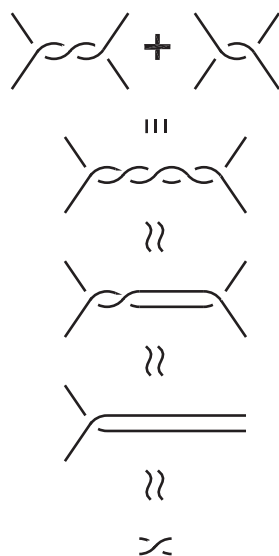


Figura 4.10: Cancelamento de cruzamentos.

Na Figura 4.10, mostramos a operação da adição entre dois blocos de torções proveniente de tangles triviais. No primeiro bloco de torções, temos três cruzamentos (-), e no segundo bloco, dois cruzamentos (+).

Observe na Figura 4.10 que após a adição das torções, acontece o anulamento de algumas torções em virtude de possuírem cruzamentos opostos, sendo assim

Proposição 4.3.1. *Torções negativas cancelam torções positivas topologicamente, e vice-versa.*

Exemplo 4.3.1. A construção do tangle racional $(2, 3, 4)$, $\frac{30}{7}$ -tangle, a partir do tangle zero, 0 -tangle, segue os seguintes passos:

- 1º) Rotacione os pontos terminais NE e SE duas vezes de 180° ;
- 2º) Em seguida, rotacione os pontos terminais SW e SE três vezes de 180° ;
- 3º) Finalmente, rotacione os pontos terminais NE e SE quatro vezes de 180° .

A Figura 4.11 ilustra o procedimento descrito.

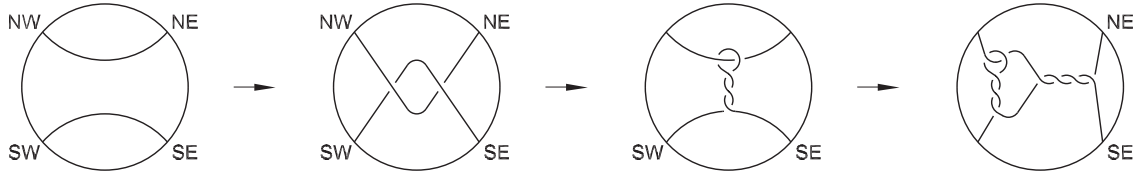


Figura 4.11: Construindo o $(2,3,4)$ -tangle.

Os tangles são chamados racionais devido ao número racional correspondente à fração contínua, esta podendo ser usada para a identificação dos tangles. Por exemplo, o $(2,3,4)$ -tangle corresponde ao $\frac{30}{7}$ -tangle. Os tangles racionais são associados à forma canônica um único número racional $\frac{p}{q}$, chamado a fração do tangle, e são classificados por suas frações através do Teorema de Conway [2]. Para isso, é necessário estabelecer alguns critérios topológicos, tais como: as operações entre tangles e os *movimentos isotópicos* nos tangles.

4.3.3 Tangles racionais e suas operações

Nesta subseção apresentamos as operações da adição, multiplicação, imagem refletida, rotação e inversão de 2 -tangles. Em [14]-[17], os modelos matemáticos resultaram como conseqüências das análises laboratoriais descritas em [7]-[12]. Desse procedimento fica evidente a importância da interpretação do DNA atado à enzima como sendo um 2 -tangle. Conseqüentemente, as torções horizontais seguida das torções verticais em um segmento contínuo de DNA pode ser vista como a adição e a multiplicação de 2 -tangles.

Os tangles racionais podem ser adicionados, multiplicados, rotacionados, invertidos e terem suas imagens refletidas. Dados dois, 2 -tangles, T e S , iremos, a seguir, descrever as operações de adição de multiplicação, imagem refletida, rotação e inversão.

- **Adição de T e S :** A **soma** de dois 2 -tangles é denotada por ‘+’.

Posicionamos horizontalmente os tangles T e S . Conectamos o ponto NE do tangle T ao ponto NW do tangle S , e respectivamente, o ponto SE do tangle T ao ponto SW do tangle S . As Figuras 4.13 e 4.14 ilustram a adição de dois tangles.

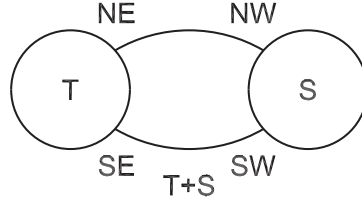


Figura 4.12: Adição de tangles.

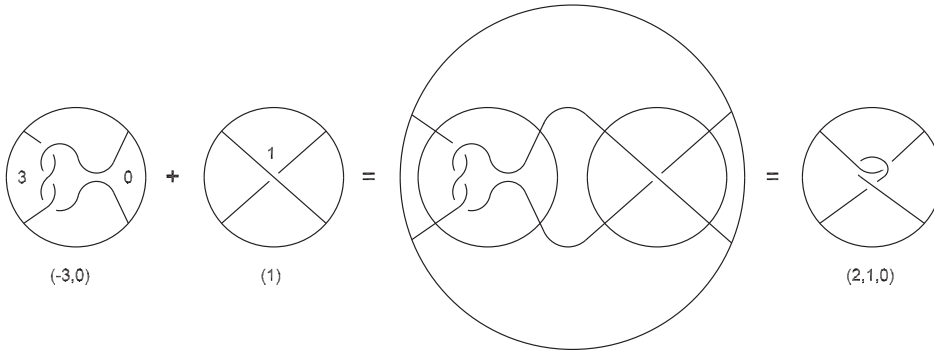


Figura 4.13: Adição de tangles.

Observe na Figura 4.13, que o resultado da adição do $(-3,0)$ -tangle e do (1) -tangle é o $(2,1,0)$ -tangle. Este resultado não é direto em relação a operação da adição. Nestes dois tangles foram aplicados, além da operação da adição, *movimentos isotópicos* para se obter o tangle desejado. Portanto, podemos concluir que a operação da adição de tangles tem por objetivo unir os pontos terminais laterais dos tangles envolvidos, indicando que esta união estará sempre acontecendo na horizontal.

- **Multiplicação de T e S :** O **produto** de dois 2 -tangles é denotado por ‘*’.

Posicionamos verticalmente os tangles T e S . Conectamos os pontos SW e SE do tangle T aos pontos NW e NE do tangle S , veja a Figura 4.15.

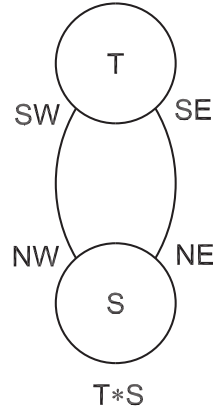


Figura 4.14: Multiplicação de tangles.

Observação 4.3.1. *As operações de adição e de multiplicação de tangles não são comutativas. Não preservam a classe dos tangles racionais.*

Definição 4.3.8. *A soma ou produto de dois tangles racionais é racional se, e somente se, um deles for um tangle inteiro.*

Exemplo 4.3.2. *Considere as seguintes operações entre dois tangles: (a) uma operação entre um tangle vertical e um tangle inteiro; (b) uma operação entre dois tangles verticais. Vejamos através da Figura 4.16 como se comportam:*

- (a) $\frac{1}{[3]} + [1] \longrightarrow$ é um tangle racional.
- (b) $\frac{1}{[3]} + \frac{1}{[2]} \longrightarrow$ não é um tangle racional.

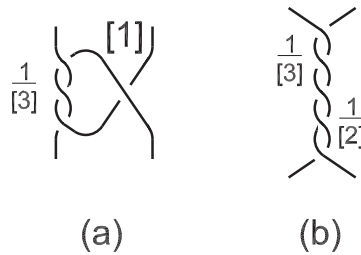


Figura 4.15: Operações entre tangles.

- **Imagem Refletida de T :** A imagem refletida de um tangle T é denotada por $-T$.

A imagem refletida $-T$ é obtida de T invertendo todos os cruzamentos.

Exemplo 4.3.3. *Seja n o número de cruzamentos em um tangle T :*

$$a.) -[n] = [-n] \rightarrow -[1] = [-1]$$

$$b.) -\frac{1}{[n]} = \frac{1}{[-n]} \rightarrow -\frac{1}{[1]} = \frac{1}{[-1]}$$

$$\text{Então, } -(T + S) = (-T) + (-S) \text{ e } -(T * S) = (-T) * (-S).$$

- **Rotação de T :** A rotação de um tangle T é denotada por T^r .

A rotação de T é obtida pela rotação de 90° de T sentido anti-horário, como mostra a Figura 4.16. A operação cancelamento de T^r é T^{-r} .

- **Inverso de T :** O inverso de um tangle T é denotado por T^i .

O inverso de T é obtido pela rotação 90° de T no sentido horário, como mostra a Figura 4.16. Esta é a operação cancelamento, e seu resultado será denotado por T^{-i} . Portanto, a operação inversão é acompanhada da rotação e da imagem refletida, isto é $T^i = -T^r$. Por exemplo, $\frac{1}{[n]} = [n]^i$ e $\frac{1}{[n]}^i = [n]$.

Podemos concluir que:

$$- T^{-i} \sim T^i \text{ e } T \sim (T^i)^i;$$

Por essa razão,

$$- \text{ o inverso de } T \longrightarrow \frac{1}{T};$$

$$- \text{ e a rotação de } T \longrightarrow -\frac{1}{T}.$$

Observação 4.3.2. *De um modo geral, os tangles T^r e T^i não são isotópicos ao tangle T .*

Posteriormente veremos que as notações apresentadas casam com o método de calcular um 2 -tangle por uma fração. Notamos também que todas as operações com 2 -tangle, classe de tangles $T_{(2,2)}$ podem ser generalizadas apropriadamente para operações com n -tangles, classe de tangles $T_{(m,n)}$.

$$\begin{array}{ccc}
 T^i = & \text{Diagram 1} & \sim \text{Diagram 2} \\
 & \text{Diagram 1: A box labeled } -T \text{ with two vertical lines on the left and two diagonal lines on the right.} & \\
 & \text{Diagram 2: A box labeled } T^r \text{ with two diagonal lines on the left and two vertical lines on the right.} & \\
 T^r = -1/T & & T^i = -T^r = 1/T
 \end{array}$$

 Figura 4.16: Rotação e inversão de 2 -tangles.

4.3.4 Operação fechamento

Nesta subseção, definimos a operação fechamento denominada *numerador* ou *denominador* de um 2 -tangle. Esta operação, quando aplicada em tangles racionais, classifica os Nós racionais. A operação fechamento desempenhará papel crucial nos Capítulos 5 e 6, onde consideraremos o substrato, o mecanismo enzimático (ação de topoisomerases e recombinases) e produtos resultantes da recombinação do DNA como numeradores de tangles racionais.

A classe $T_{(2,2)}$ é particularmente interessante, devido à simetria dos seus pontos terminais {NW, NE, SW e SE}, mantendo a classe fechada sob as operações tangles que dão origem a dois Nós diferentes, como ilustra a Figura 4.17:

Definição 4.3.9. (*Numerador*). O numerador de um 2 -tangle T , denotado por $\mathbf{N}(T)$, é obtido ligando com arcos simples os dois pontos terminais superiores (NW com NE) de T e os dois pontos terminais inferiores (SW com SE) de T .

Definição 4.3.10. (*Denominador*). O denominador de um 2 -tangle T , denotado por $\mathbf{D}(T)$, é obtido ligando com arcos simples os pontos terminais NW com SW e NE com SE, respectivamente.

Da operação fechamento de tangles, decorre uma classificação dos Nós racionais. Isto porque a simetria dos pontos terminais do 2 -tangle garante que o 2 -tangle seja racional e, portanto, o numerador ou o denominador do tangle racional será um Nó racional. O conhecimento que se tem sobre os Nós racionais é devido aos Teoremas de Schubert com respeito aos Nós racionais orientados e não orientados [26]. Nesta dissertação, consideraremos somente a orientação dos tangles.

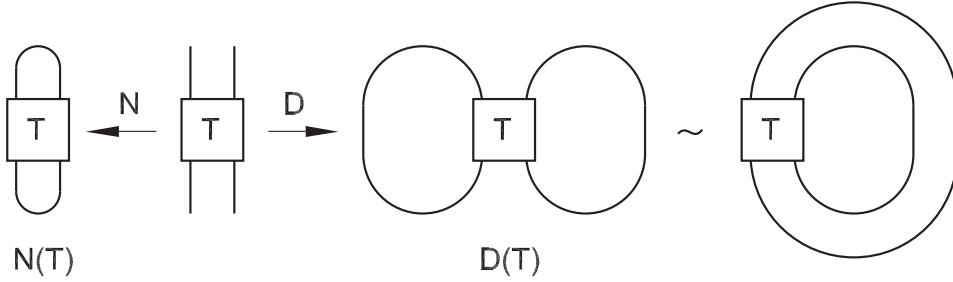


Figura 4.17: O *numerador* e o *denominador* de um 2-tangle.

Observe na Figura 4.17 que aplicando a operação da rotação em $N(T)$ ou em $D(T)$, temos

$$N(T) = D(T^r) \text{ e } D(T) = N(T^r).$$

Uma outra forma para determinarmos o $D(T)$ é através do $N(T)$ pela troca do tangle zero, $[0]$, pelo tangle infinito, $[\infty]$, veja Figura 4.18. Podemos dizer que a transformação do numerador para o denominador é um precursor para o modelo tangle de um evento de recombinação. Neste processo fica subentendido que ocorre a cirurgia de Dehn [5], [14] e [15], ou seja a substituição do tangle zero pelo tangle infinito. A troca $[0]$ para $[\infty]$ pode ser descrita algebricamente pela equação:

$$N(T) = N(T + [0]) \longrightarrow N(T + [\infty]) = D(T).$$

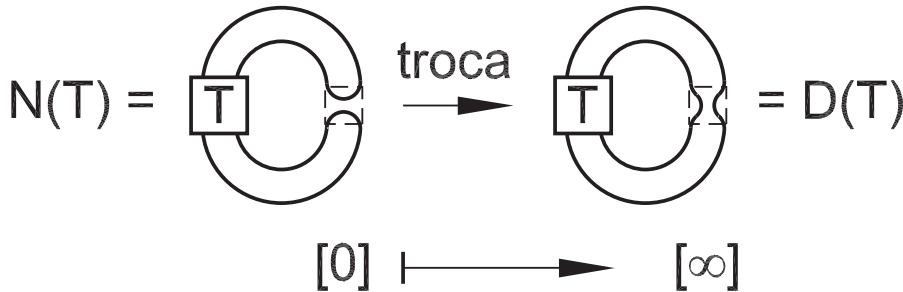


Figura 4.18: Transformando *numerador* em *denominador*.

No processo de transformação observamos que:

- Embora a soma/produto de um tangle racional é, em geral, não racional, o numerador (denominador) fechado da soma (produto) de dois tangles racionais é um tipo particular de Nó ou Catenane, isto é, um **4-plat**;
- Outro fato interessante é quando dois tangles racionais não são isotópicos, mas possuem numeradores isotópicos. Essa é a idéia básica utilizada para a classificação de Nós racionais por Schubert [26];
- A substituição do tangle zero pelo tangle infinito (cirurgia de tangles), é um dos pontos chave do modelo tangle apresentado por Ernest e Sumners, [14]-[17], a ser considerado no Capítulo 5, quando da comparação com a ação enzimática (troca de fios do DNA).

4.4 Formas do Tangle Racional: Torção, Padrão e Canônica

Os tangles racionais podem ser apresentados em três formas diferentes algebricamente, porém isotópicas topologicamente. Nesta dissertação, desejamos obter os produtos resultantes da recombinação do DNA através da fração, que corresponderá ao tipo topológico para cada produto da recombinação. Isso só é possível quando o tangle racional estiver pelo menos em sua forma padrão. Nesta seção, primeiramente definimos tangle racional na forma torção e através da aplicação de movimentos isotópicos para se obter a forma padrão. Em seguida, faremos a descrição algébrica dos tangles racionais via a construção de frações contínuas, para finalmente obter a forma canônica para tangles racionais.

4.4.1 Tangle racional na forma torção

Um tangle racional na forma torção pode ser convertido para os tangles $[0]$ ou $[\infty]$ por uma sequência finita de torções. Isso mostra que um tangle racional na forma torção pode ser obtido intuitivamente de um tangle racional previamente criado por consecutivas adições de tangles inteiros e multiplicações de tangles verticais, como mostra a Figura 4.19. Assim,

Definição 4.4.1. *Um tangle racional está na **forma torção** se for criado por consecutivas adições e multiplicações dos tangles $[+1]$ ou $[-1]$, iniciando do tangle $[0]$ ou do tangle $[\infty]$.*

Os tangles racionais na forma torção podem ser descritos por uma expressão algébrica do tipo:

$$[s_k] + (\cdots + (\frac{1}{[r_3]} * ([s_1] + (\frac{1}{[r_1]} * [s_0] * \frac{1}{[r_2]}) + [s_2]) * \frac{1}{[r_4]}) + \cdots) + [s_{k+1}], s_i, r_i \in \mathbb{Z}. \quad (4.1)$$

ou do tipo:

$$\frac{1}{[s_k]} * (\cdots * ([r_3] + (\frac{1}{[s_1]} * ([r_1] + \frac{1}{[s_0]} + [r_2]) * \frac{1}{[s_2]} + [r_4]) * \cdots) * \frac{1}{[s_{k+1}]}, s_i, r_i \in \mathbb{Z}. \quad (4.2)$$

Das expressões (4.1) e (4.2), notamos que alguns dos s_i 's, r_i 's podem ser zero, permitindo que $[s_k] + [s_{k+1}] = [0]$ e $[s_0] = [\infty]$.

Exemplo 4.4.1. Considere um tangle racional na forma torção. Podemos descrevê-lo, em função da expressão algébrica T , como:



Figura 4.19: Tangle racional na forma torção.

$$T = [s_k] + (\cdots + (\frac{1}{[r_3]} * ([s_1] + (\frac{1}{[r_1]} * [s_0] * \frac{1}{[r_2]}) + [s_2]) * \frac{1}{[r_4]}) + \cdots) + [s_{k+1}], s_i, r_i \in \mathbb{R} \quad (4.3)$$

$$T = (([3] + ([1] * [3] * \frac{1}{[2]}) + [-4]) * \frac{1}{[-4]}) + [2].$$

Comparando a Definição 4.4.1 com a Definição 4.3.1, observamos a seguinte equivalência: Sejam S^2 uma esfera bidimensional, limite da bola tridimensional B , e p os quatro pontos equatoriais especificados em S^2 ; Seja, $h : (S^2, p) \longrightarrow (S^2, p)$ um automorfismo de S^2 com os quatro pontos, isso estende para um automorfismo \bar{h} da bola tridimensional B [15]; Seja ainda, a , dois arcos $\{x, y\} \times I$ ligando os pares dos quatro pontos do limite

de B . Consideramos agora $\bar{h}(a)$, o tangle induzido por h . Observe que a isotopia h é uma composição das tranças formadas pelos pares dos pontos. Então a extensão \bar{h} é uma composição de torções dos arcos contendo os pontos terminais. Portanto, $\bar{h}(a)$ é um tangle racional, e todo tangle racional pode ser obtido dessa maneira. Usamos essa equivalência como uma caracterização própria dos tangles racionais.

4.4.2 Movimentos isotópicos para tangles racionais

Nesta subseção, definimos movimentos isotópicos para tangles racionais. Esses movimentos desempenham um papel importante na teoria dos tangles, e conjuntamente aos *movimentos de Reidemeister*, serão aplicados nas projeções planares dos produtos resultantes da recombinação do DNA, (Capítulo 6).

Definição 4.4.2. (*Flype*). Um **flype** é um movimento isotópico de um **2-tangle** T , sobre um **cruzamento** a , aplicado em um 2-subtangle da forma $[\pm 1] + t$ ou $[\pm 1] * t$ fixando os pontos terminais do subtangle onde o flype é aplicado. Um flype é chamado racional se o 2-subtangle no qual o flype atua é racional.

A Figura 4.20 ilustra este conceito.

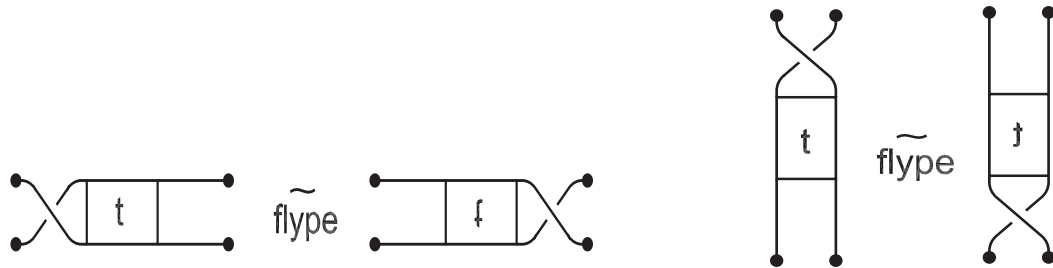


Figura 4.20: Movimentos flype.

Lema 4.4.1. Todos os flypes de um tangle racional T são racionais.

Observação 4.4.1. Os flypes preservam a estrutura alternante de um diagrama.

A orientação pré-estabelecida no tangle determina o caminho a ser percorrido em todo o diagrama tangle, definindo assim os cruzamentos positivos (+) e os negativos (−) para o diagrama tangle. Quando todos os cruzamentos são do mesmo tipo, dizemos que o

tangle é **alternante** onde os cruzamentos se alternam de baixo para cima ao longo do caminho percorrido no diagrama tangle, como ilustra a Figura 4.21.

Definição 4.4.3. Um **tangle** ou um **diagrama Nó** é **alternante** se, e somente se, possuem os mesmos tipos de cruzamentos, caracterizando tangles alternantes e diagramas Nós alternantes.

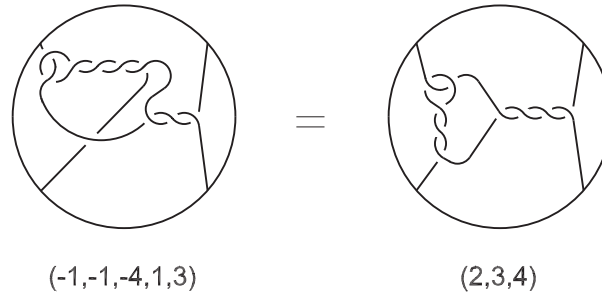


Figura 4.21: Tangle não alternante e alternante.

Os flypes são os únicos movimentos necessários no estabelecimento da conjectura de Tait para Nós alternantes [2], [4] e [26].

A Conjectura Tait para Nós. Dois Nós são isotópicos se, e somente se, quaisquer dois diagramas em S^2 estão relacionados por uma seqüência de flypes.

Uma outra operação que é utilizada em tangles racionais produzindo um movimento isotópico é o **flip**, ilustrado na Figura 4.22.

Definição 4.4.4. (Flip). Um **flip** é uma rotação de 180° no espaço de um 2-tangle. Dois tipos de flip podem ocorrer:

1. $T^{hflip} \longrightarrow$ **flip horizontal** de um 2-tangle T . T^{hflip} é obtido de T pela rotação de 180° em torno do eixo horizontal no plano de T .
2. $T^{vflip} \longrightarrow$ **flip vertical** de um 2-tangle T . T^{vflip} é obtido de T pela rotação de 180° em torno do eixo vertical no plano de T .

Nas Definições 4.4.1 e 4.4.2 notamos que um flype em um 2-subtangle t pode ser descrita por uma das identidades isotópicas

$$[\pm 1] + t \sim t^{hflip} + [\pm] \quad \text{ou} \quad [\pm 1] * t \sim t^{vflip} * [\pm 1].$$

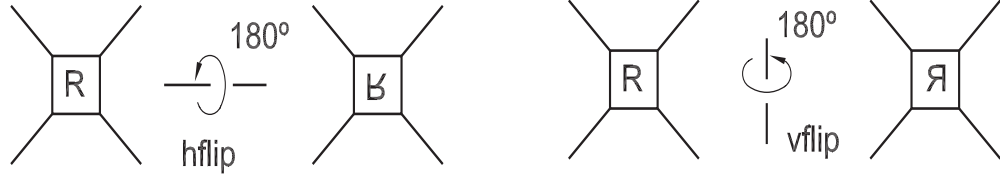


Figura 4.22: Flip horizontal e vertical.

Diante disso, podemos concluir que um flip troca os pontos terminais do tangle, e em geral, um tangle flipado não é isotópico a um tangle original.

Lema 4.4.2. *Se T é racional, então:*

- (i) $T \sim T^{hflip}$;
- (ii) $T \sim T^{vflip}$;
- (iii) $T \sim (T^i)^i = (T^r)^r$.

Como consequência do Lema 4.4.2, a adição de $[\pm 1]$ e a multiplicação de $[\pm 1]$ são comutativas. Assim, um flype racional é descrito por

$$[\pm 1] + t \sim t + [\pm 1] \quad \text{ou} \quad [\pm 1] * t \sim t * [\pm 1].$$

Em geral, para qualquer $m, n \in \mathbf{Z}$ temos a seguinte identidade isotópica

$$[m] + T + [n] \sim T + [m + n], \quad \frac{1}{[m]} * T * \frac{1}{[m+n]}.$$

Em vista do Lema 4.4.2, uma outra forma de definição do flype racional pode ser estabelecida através de uma das seguintes identidades:

$$[\pm 1] + t \sim ([\pm 1] + t)^{vflip} \quad \text{ou} \quad [\pm 1] * t \sim ([\pm 1] * t)^{hflip}.$$

O Teorema de Conway [2] representa um resultado significativo na teoria dos Nós. Este teorema estabelece que os *movimentos isotópicos* aplicados em um tangle racional conduzem a um outro tangle racional sem alterar a estrutura topológica, então esses tangles devem possuir a mesma fração. Este resultado é uma prova combinatorial para os *movimentos isotópicos* através da fração do tangle.

Teorema 4.4.1 (Conway, 1970). *Dois tangles racionais são isotópicos se, e somente se, eles possuem a mesma fração.*

Dois tangles racionais T e S em B^3 são equivalentes se pudermos deformar um no outro via uma *isotopia ambiente*. Dizemos ainda que tais tangles são equivalentes se, e somente se, os números racionais correspondentes às suas frações contínuas são os mesmos.

Exemplo 4.4.2. *O tangle $(-2, -4, 1, 3)$ e o tangle $(2, 3, 4)$, são isotópicos, uma vez que representam o mesmo número racional $\frac{30}{7}$, veja a Figura 4.23.*

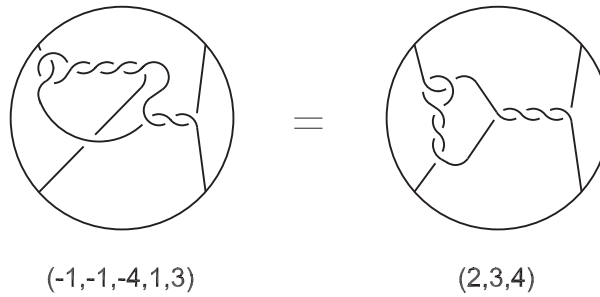


Figura 4.23: O $\frac{30}{7}$ -tangle.

No processo de recombinação sítio-específica do DNA, iremos utilizar a teoria dos tangles até que todas as relações de equivalência, **isotopias**, sejam identificadas. Os tangles T e S em B^3 são isotópicos, denotados por $T \sim S$, se apresentam configurações idênticas de seus pontos terminais $m+n$ em $S^2 = \partial B^3$ e se existir uma *isotopia ambiente* de (B^3, T) em (B^3, S) que é a identidade no limite $(S^2, \partial T) = (S^2, \partial S)$. Uma *isotopia ambiente* pode ser vista como uma deformação contínua de B^3 fixando os pontos terminais no limite da esfera e deformando um tangle no outro sem que ocorra auto-interseções. Equivalentemente, existe um automorfismo preservando a orientação de $h : (B^3, T) \rightarrow (B^3, S)$ que é o mapa identidade no limite. Com isso, os tangles isotópicos estão na mesma classe topológica.

Em termos de diagrama, Reidemeister [1] provou que os movimentos locais no diagrama ilustrado na Figura 4.23 captura combinatorialmente a noção de *isotopia ambiente* de Nós e tangles no espaço tridimensional. Isto é, se dois diagramas que representam Nós ou tangles são isotópicos, então um diagrama pode ser obtido do outro por uma seqüência

de *movimentos de Reidemeister*. No caso dos tangles, os pontos terminais permanecem fixos, e todo movimento ocorre no interior da bola do tangle.

4.4.3 Tangle racional na forma padrão

Nesta subsecção definimos tangle racional na forma padrão e descrevemos sua expressão algébrica. Estes conceitos fazem parte da análise combinatorial apresentada por Kauffman e Lambropoulou em [24]-[26].

Os tangle racionais são gerados por consecutivas torções horizontais e verticais iniciando dos tangles triviais $[0]$ ou $[\infty]$. As torções horizontais e verticais podem ocupar lugares à direita, acima ou abaixo dos pontos terminais de um tangle racional anteriormente criado. Aplicando alguns *movimentos isotópicos* apropriados em subtangles destes tangles racionais, podemos sempre trazer as torções para a direita ou abaixo do tangle. Dizemos então que o tangle racional está na **forma padrão**.

Definição 4.4.5. Um tangle racional está na **forma padrão**, se for criado por consecutivas adições de tangles $[\pm 1]$ **somente à direita**: $T \rightarrow T + [\pm k]$, e multiplicações de tangles $[\pm 1]$ **somente abaixo**: $T \rightarrow T * \frac{1}{[\pm k]}$, iniciando com o tangle $[0]$ ou $[\infty]$, Figura 4.24.

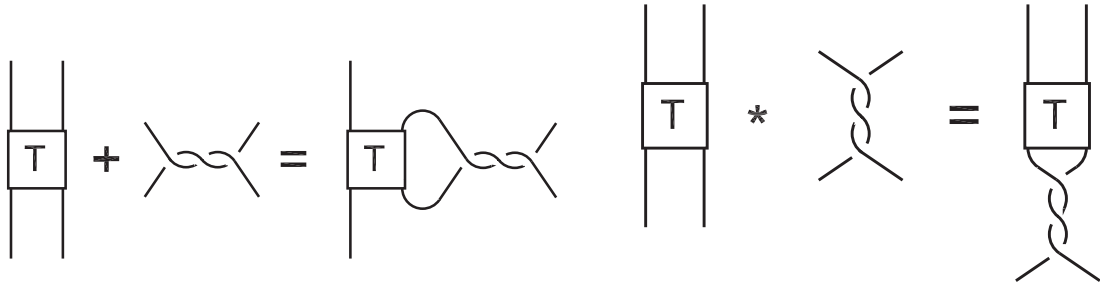


Figura 4.24: Criando tangles racionais na forma padrão.

Os tangles racionais na forma padrão possuem uma expressão algébrica do tipo:

$$((([a_n] * \frac{1}{a_{n-1}}) + [a_{n-2}]) * \cdots * \frac{1}{[a_2]}) + [a_1], \quad \text{para } a_2, \dots, a_n \in \mathbb{Z} - \{0\}, \quad (4.4)$$

onde $[a_1]$ pode ser $[0]$ e $[a_n]$ pode ser $[\infty]$ (ver Observação 4.3.9). Os a_i 's são inteiros denotando os números de torções e os seus tipos. O tangle racional na forma padrão inicia a torção com o tangle $[a_n]$ e termina a torção com o tangle $[a_1]$.

Exemplo 4.4.3. *Seja T um tangle racional na forma padrão como mostrado na Figura 4.25. Desejamos obter sua expressão algébrica.*

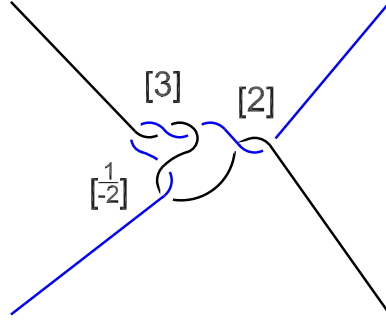


Figura 4.25: A tangle na forma padrão.

Substituindo os valores dos números de torções e os seus tipos, obtemos a expressão algébrica do tipo:

$$T = (([3] * \frac{1}{[-2]}) + [2]).$$

Os tangles racionais na forma padrão podem ser representados também de maneira abstrata através da representação com **3 fitas**, como ilustra a Figura 4.26. Esta representação abstrata com três fitas torna-se mais apropriada para estudar Nós racionais. Observe na Figura 4.25 que o tangle racional na forma padrão inicia o processo de torção a partir do tangle $[a_3]$, e a distorção do tangle $[a_1]$, tangle $[2]$, sendo que na representação trança com 3 fitas acontece uma versão comprimida do flip vertical da representação padrão.

Na Figura 4.26 observe que a fita superior dos cruzamentos corresponde aos cruzamentos horizontais e a fita inferior aos verticais da representação padrão. Portanto, as duas representações para tangles racionais são equivalentes, tornado claro a discussão sobre os flips. Note ainda que, na representação com 3 fitas precisamos desenhar as imagens refletidas dos termos pares, já que quando rotulamo-as para a posição vertical, obtemos cruzamento do tipo oposto.

Outro fator importante para os tangles racionais é com relação ao conjunto de torções do tangle, n . A Figura 4.26 ilustra um tangle racional **abstrato** na forma padrão com

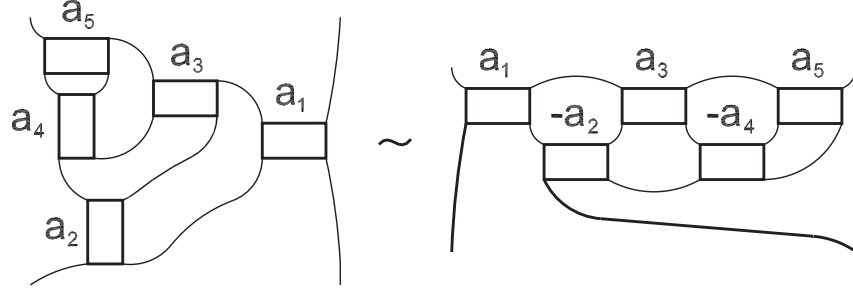


Figura 4.26: Tangle racional abstrato com 3 fitas.

um número ímpar do conjunto de torções ($n = 5$). Se n é par e $[a_1]$ é horizontal então $[a_n]$ tem que ser vertical. Um exemplo de n par é mostrado na Figura 4.27

Observação 4.4.2. Na construção de um tangle racional, o primeiro cruzamento, $[a_n]$, pode ser do tipo horizontal ou do tipo vertical. Entretanto, o número n deverá ser sempre ímpar.

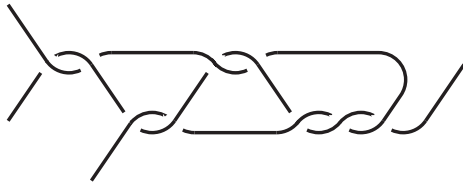


Figura 4.27: n par.

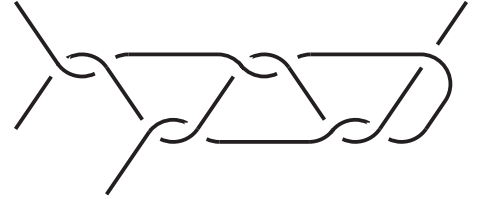


Figura 4.28: n ímpar.

Nas Figuras 4.27 e 4.28 temos dois tangles com o conjunto de torções, n , par e ímpar, respectivamente. Observe que foi aplicado um movimento *hflip* no cruzamento a_1 (primeiro cruzamento), Figura 4.27, de forma a deixar n ímpar sem alterar a estrutura topológica do tangle, Figura 4.28.

Da teoria dos tangles, [24]-[25], associamos ao tangle racional T , um vetor de números inteiros (a_1, a_2, \dots, a_n) , onde a primeira componente denota o lugar onde o tangle inicia o desembaraçamento e a última componente onde inicia a torção. Da Observação 4.4.2, quando o vetor de números inteiros (a_1, a_2, \dots, a_n) for par, a primeira componente pode ser quebrada em uma unidade, *i.e.* $(a_1, a_2, \dots, a_n) = ((a_1, a_2, \dots, a_n - 1, 1)$, se $a_n > 0$, e

$(a_1, a_2, \dots, a_n) = (a_1, a_2, \dots, a_n + 1, -1)$ se $a_n < 0$. Portanto, assumiremos que n sempre será ímpar.

Lema 4.4.3. *Todo tangle racional na forma torção pode ser transformado via movimentos isotópicos para a forma padrão.*

Exemplo 4.4.4. *Seja T um tangle racional na forma torção, Figura 4.29.*

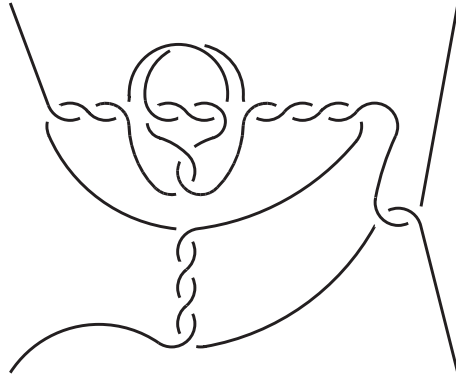


Figura 4.29: Tangle racional na forma torção.

Repetindo a expressão algébrica (4.3) do tangle T na forma torção, temos

$$T = [s_k] + (\dots + (\frac{1}{[r_3]} * ([s_1] + (\frac{1}{[r_1]} * [s_0] * \frac{1}{[r_2]}) + [s_2]) * \frac{1}{[r_4]}) + \dots) + [s_{k+1}],$$

Esta forma pode ser transformada isotopicamente para o tangle racional na forma padrão, conservando-se os cruzamentos intercalados sempre à direita e abaixo, isto é,

$$T = (((([s_0] * \frac{1}{[r_1 + r_2]}) + [s_1 + s_2]) * \frac{1}{[r_3 + r_4]}) + \dots) + [s_k + s_{k+1}]. \quad (4.5)$$

Substituindo os valores do tangle racional T , na expressão (4.5), temos:

$$T = (((([3] * \frac{1}{[1+2]}) + [3 - 4]) * \frac{1}{[0-4]}) + [2]),$$

$$T = (((([3] * \frac{1}{[3]}) + [-1]) * \frac{1}{[-4]}) + [2]).$$

Portanto, com a expressão algébrica podemos construir o tangle racional na forma padrão como ilustrado na Figura 4.30.

No Capítulo 6 demonstraremos como aplicar os movimentos isotópicos no tangle racional na forma torção, Figura 4.29, para se obter a forma padrão, Figura 4.30.

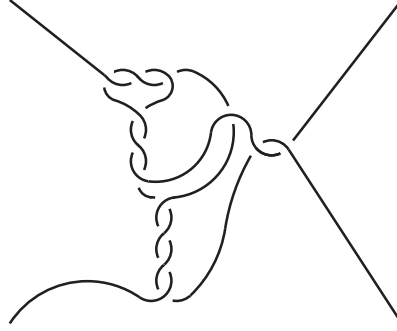


Figura 4.30: Tangle racional na forma padrão.

Observação 4.4.3. *Da Definição 4.4.5 e do Lema 4.4.3, temos que toda classe de tangles racionais pode ser gerada intuitivamente por duas operações iniciando dos tangles $[0]$ ou $[\infty]$.*

1. Adição de $[+1]$ ou $[-1]$: $T \longrightarrow T + [\pm 1]$.
2. Multiplicação por $[+1]$ ou $[-1]$: $T \longrightarrow T * [\pm 1]$.

Temos ainda que o resultado multiplicação de um tangle racional T por $\frac{1}{[n]}$ pode ser obtido através da adição de $[n]$ com o inverso de $\frac{1}{T}$ seguido pela inversão. De fato, temos:

Lema 4.4.4. *Todo tangle racional T satisfaz a seguinte equação isotópica:*

$$T * \frac{1}{[n]} = \frac{1}{[n] + \frac{1}{T}} \quad e \quad \frac{1}{[n]} * T = \frac{1}{\frac{1}{T} + [n]}.$$

Da Observação 4.4.3 e do Lema 4.4.4, temos que as duas operações algébricas simples entre tangles racionais que preservam a estrutura do tangle racional e geram a classe inteira dos tangles racionais iniciando do tangle $[0]$, são:

1. Adição de $[+1]$ ou $[-1]$: $T \longrightarrow T + [\pm 1]$.
2. Inversão de tangles racionais: $T \longrightarrow \frac{1}{T} = T^{-1}$.
3. Rotação de tangles racionais: $T \longrightarrow T^r = -\frac{1}{T}$.

4.4.4 Tangle racional na forma fração contínua

Nesta subsecção descrevemos tangles racionais via frações contínuas. Kauffman e Lambropoulou em [24]-[25] demonstram uma classificação elegante para os tangles racionais através da descrição algébrica via fração contínua.

Definição 4.4.6. *Uma **fração contínua em tangles inteiros** é uma descrição algébrica de um tangle racional via construção da fração contínua dos tangles $[a_1], \dots, [a_n]$ com todos os numeradores iguais a 1, isto é,*

$$T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]] := [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}} \quad (4.6)$$

para $a_2, \dots, a_n \in \mathbb{Z} - \{0\}$ e n par ou ímpar. O termo a_1 pode ser zero. Nesse caso, o tangle $[0]$ pode ser omitido. Um tangle racional descrito, via fração contínua, como tangles inteiros é dito estar na **forma fração contínua**.

Proposição 4.4.1. *Todo tangle racional pode ser escrito na forma fração contínua.*

Demonstração: Pelo Lema 4.4.3, sabemos que o tangle racional está na forma padrão. Agora, com aplicações repetidas do Lema 4.4.4 obtemos a forma fração contínua correspondente:

$$((([a_n] * \frac{1}{[a_{n-1}]}) + [a_{n-2}]) * \dots * \frac{1}{[a_2]}) + [a_1] \longrightarrow [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}} \quad (4.7)$$

Para facilitar a descrição algébrica de um tangle racional, dizemos que um tangle racional na forma padrão $[[a], [b], [c]]$ é do tipo:

$$([c] * \frac{1}{[b]}) + [a],$$

e possui a forma fração contínua correspondente:

$$[a] + \frac{1}{[b] + \frac{1}{[c]}} = [[a], [b], [c]].$$

Portanto a forma fração contínua e a forma padrão de um tangle racional são equivalentes.

Exemplo 4.4.5. *O tangle racional na forma padrão, da Figura 4.31 pode ser escrito da seguinte maneira:*

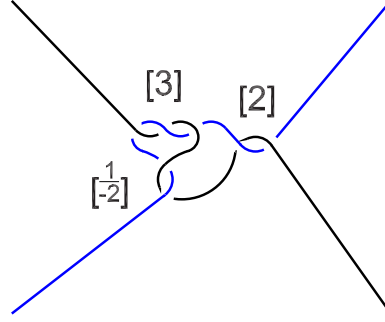


Figura 4.31: A tangle na forma padrão.

- **Expressão algébrica na forma padrão:**

$$T = ([c] * \frac{1}{[b]}) + [a] \longrightarrow ([3] * \frac{1}{[-2]}) + [2].$$

- **Forma fração contínua:**

$$T = [[a], [b], [c]] \longrightarrow T = [2] + \frac{1}{[-2] + \frac{1}{[3]}}.$$

O comprimento da fração é o número n se a_1 é zero ou não. Se para $i > 1$ todos os termos são positivos ou todos os termos são negativos e $a_1 \neq 0$ ou $a_1 = 0$, então o valor absoluto da fração contínua é maior ou menor que um. Deve estar claro que as duas operações algébricas simples da *adição* de $+1$ ou -1 e *inversão* geram intuitivamente a classe inteira das frações contínuas iniciando do zero. Chamamos o número racional $\frac{p}{q} = [a_1, a_2, \dots, a_n]$ o valor correspondente da fração contínua aritmética. Logo, $T = \frac{p}{q}$.

Lema 4.4.5. *Seja $\frac{p}{q}$ um número racional. Então*

1. *existem $a_1 \in \mathbb{Z}, a_2, \dots, a_n \in \mathbb{Z} - \{0\}$ tais que $\frac{p}{q} = [a_1, a_2, \dots, a_n]$;*
2. $\frac{p}{q} + [\pm 1] = [a_1 \pm 1, a_2, \dots, a_n]$;
3. $\frac{p}{q} = [0, a_1, a_2, \dots, a_n]$;

$$4. \quad -\frac{p}{q} = [-a_1, -a_2, \dots, -a_n].$$

Observação 4.4.4. Se a fração contínua $[a_1, a_2, \dots, a_n]$ possui comprimento ímpar, podemos torná-la de comprimento par via transformação do último termo:

$$[a_1 \pm 1, a_2, \dots, a_n] = [a_1 \pm 1, a_2, \dots, a_n - 1] \text{ para } a_n > 0$$

e

$$[a_1 \pm 1, a_2, \dots, a_n] = [a_1 \pm 1, a_2, \dots, a_n + 1] \text{ para } a_n < 0.$$

A fração contínua é positiva ou negativa se todos os termos são positivos ou negativos, respectivamente.

4.4.5 Tangle racional na forma canônica

Nesta subseção apresentamos a forma canônica para tangles racionais representada por vetores.

Definição 4.4.7. Um tangle racional $T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]]$ está na **forma canônica** se T é alternante e n é ímpar.

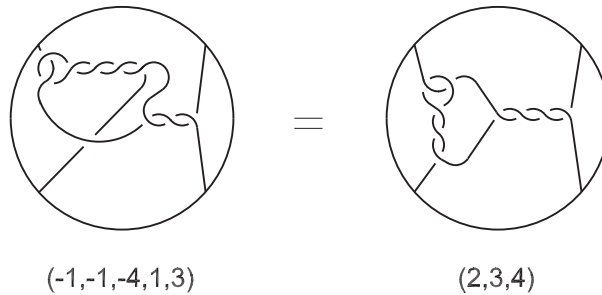


Figura 4.32: Tangle não alternante e alternante.

Os tangles racionais na forma canônica, são representados como um vetor com componentes inteiras, (a_1, a_2, \dots, a_n) , onde cada comprimento corresponde ao número de torções no sentido horizontal ou vertical, partindo sempre de uma componente horizontal. Como exemplo, considere o tangle mostrado na Figura 4.32 (lado direita da igualdade). Este tangle está na forma canônica, pois é alternante possuindo todos os cruzamentos do mesmo tipo. Portanto, um tangle racional $T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]]$ é alternante se os a_i 's são todos positivos ou todos negativos e n é ímpar, como mostrado na Figura 4.32.

Proposição 4.4.2. *Todo tangle racional pode ser transformado via isotopia para a forma canônica.*

Note na Figura 4.33 que o tangle T está na forma padrão, mas não representa um diagrama alternante. O mesmo acontece com a sua forma fração contínua, os componentes possuem sinais diferentes. Então tem que ocorrer em algum lugar de T um movimento isotópico de maneira a deixá-lo alternante. O mesmo acontece com a fração, uma troca de sinal dos componentes com sinais diferentes.

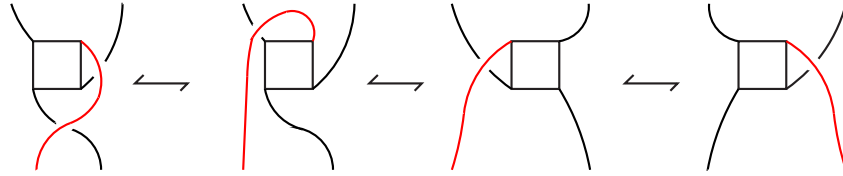


Figura 4.33: Aplicação de movimentos isotópicos para deixá-lo alternante.

Disso segue, por indução no número de cruzamentos no tangle, que T é isotópico a um tangle racional alternante. Um tangle racional alternante possui uma expressão fração contínua com todos os termos positivos ou negativos, e da Observação 4.4.2 podemos assumir que o número de termos é ímpar.

Corolário 4.4.1. *Nós racionais são alternantes, se possuem um diagrama que é o fechamento de um tangle racional alternante.*

4.5 Frações Contínuas e a Classificação de Tangles Racionais

Nesta subseção fazemos uma analogia entre tangles racionais e as frações contínuas [25]. Esta analogia é utilizada na classificação de tangles racionais via o invariante topológico (frações contínuas). É necessário o rigor matemático na sua descrição, pois o invariante topológico caracteriza a estrutura e o tipo de Nós resultantes dos produtos de recombinação do DNA.

Lema 4.5.1. *Toda **fração contínua** $[a_1, a_2, \dots, a_n]$, pode ser transformada em uma única **forma canônica** $[\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_m]$, onde todos os β_i 's são positivos ou negativos e m é ímpar.*

Demonstração: Usando o algoritmo de Euclides escrevemos $\frac{p}{q} = [a_1, a_2, \dots, a_n]$ na forma desejada. Suponhamos que $\frac{p}{q} = \frac{11}{7}$. Então

$$\begin{aligned} \frac{11}{7} &= 1 + \frac{4}{7} = 1 + \frac{1}{\frac{7}{4}} = 1 + \frac{1}{1 + \frac{3}{4}} = 1 + \frac{1}{1 + \frac{\frac{1}{4}}{\frac{3}{4}}} \\ &= 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{3}}} = [1, 1, 1, 3] = 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{2 + \frac{1}{1}}}} = [1, 1, 1, 2, 1]. \end{aligned}$$

Podemos agora definir a fração de um tangle racional. Dado T , um tangle racional na forma torção, representado através da expressão algébrica (4.1):

$$[s_k] + (\dots + (\frac{1}{[r_3]} * ([s_1] + (\frac{1}{[r_1]} * [s_0] * \frac{1}{[r_2]}) + [s_2]) * \frac{1}{[r_4]}) + \dots) + [s_{k+1}],$$

então

Definição 4.5.1. *Chamamos a fração de T , denotado por $F(T)$, o número racional*

$$F(T) = s_k + (\dots + (\frac{1}{r_3} * (s_1 + (\frac{1}{r_1} * s_0 * \frac{1}{r_2}) + s_2) * \frac{1}{r_4}) + \dots) + [s_{k+1}],$$

Definimos a **fração** de um tangle racional $T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]]$, $F(T)$, como o valor numérico da fração contínua obtida substituindo os inteiros por tangles inteiros na expressão para T , *i.e.*,

$$F(T) := [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}} = [a_1, a_2, \dots, a_n], \quad (4.8)$$

se $T \neq [\infty]$, e $F([\infty]) := \infty = \frac{1}{0}$, como uma expressão formal, onde a operação aritmética ‘ $*$ ’ é definida via

$$x * y := \frac{1}{\frac{1}{x} + \frac{1}{y}}.$$

Lema 4.5.2. *Seja $T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]]$ um tangle racional na forma fração contínua. Então a fração tangle possui as seguintes propriedades.*

$$1. F(T + [\pm 1]) = F(T) \pm 1,$$

$$2. F\left(\frac{1}{T}\right) = \frac{1}{F(T)},$$

$$3. F(-T) = -F(T).$$

Lema 4.5.3. *Se T é um tangle racional na forma torção e C sua forma fração contínua, então $F(T)=F(C)$.*

Observação 4.5.1. *Se $T = [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}}$, então $F(T) = a_1 + \frac{1}{a_2 + \dots + \frac{1}{a_{n-1} + \frac{1}{a_n}}}$, e isso pode ser tomado como a definição de $F(T)$.*

A seguir apresentamos um conjunto de resultados importantes na teoria de tangles:

- Se T é um tangle racional na forma fração contínua e T' sua forma canônica, então $F(T) = F(T')$;
- Se T é racional, então $F(T^{flip}) = F(T) = F(T) = F(T^{vflip})$;
- Dois tangles racionais alternantes em S^2 são isotópicos se, e somente se, eles diferem por uma seqüência de flypes racionais;
- Dois tangles racionais que diferem por um flype racional possui a mesma fração;
- A fração é uma isotopia invariante dos tangles racionais;
- Dois tangles racionais com a mesma fração são isotópicos;
- A forma canônica de um tangle racional é única;
- Tangles racionais na forma canônica possuem um número mínimo de cruzamentos;
- Tangles racionais alternantes possuem um número mínimo de cruzamentos.

Como uma observação final sobre a demonstração do **Teorema de Conway** relacionamos os seguintes passos:

1. Dois tangles são isotópicos se possuem a mesma fração;
2. Sejam $T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]]$ e $S = [[b_1], [b_2], \dots, [b_n]]$ dois tangles racionais isotópicos, então
 - Obter as suas formas canônicas, T' e S' , respectivamente;
 - Calcular suas frações contínuas $F(T) = \frac{p}{q}$ e $F(S) = \frac{p}{q}$ e suas formas canônicas;

- Se T' e S' são alternantes e isotópicos, então eles diferem por uma seqüência de flypes.

3. Mostrando que se dois tangles racionais que diferem por uma seqüência de flypes eles possuem a mesma fração contínua, e portanto concluído a prova do *Teorema de Conway*.

O Teorema 4.4.1 diz que números racionais são representados de forma bijetora por tangles racionais; seus negativos são representados pelas imagens refletidas e seus inversos por inversões de tangles racionais. Adicionando inteiros ao número racional corresponde a adicionar torções inteiras a um tangle racional; mas a soma de números racionais não inteiros não corresponde aos tangles racionais da soma. O Teorema 4.4.1 implica que a forma canônica de um tangle racional é única, já que a forma canônica correspondente de suas frações contínuas é única. Outra observação é que para trazermos um tangle racional para a sua forma canônica, teremos que calcular suas frações e expressá-las na forma canônica.

4.6 Conclusões

Iniciamos este capítulo, com a história dos tangles e Nós racionais com o objetivo de situar o leitor. Em seguida definimos tangles e apresentamos todos os passos para a classificação dos tangles racionais. Finalmente, definimos a fração do tangle como um invariante topológico para os tangles racionais, elemento chave do *Teorema de Conway*.

Durante todo o capítulo, procuramos apresentar os principais conceitos e definições desenvolvidos inicialmente por Conway [2], e posteriormente reconsiderados por Kauffman e Lambropoulou [23]-[26]. Estes conceitos e definições são essenciais no entendimento da descrição algébrica dos produtos resultantes da recombinação sítio-específica do DNA.

Para que estes produtos resultantes da recombinação do DNA sejam classificados apropriadamente dentro das famílias de Nós, é desejável que Nós e tangles racionais apresentem estruturas topológica e algébrica bem definidas.

Capítulo 5

O Modelo Tangle para Recombinação Sítio-Específica do DNA

Neste capítulo apresentamos o modelo tangle para recombinação sítio-específica do DNA baseando-se nos sistemas de recombinação *transposase* e *integrase*. Na Seção 5.1, descrevemos o complexo sináptico comparando-o aos tangles racionais, e como acontece a recombinação sítio-específica do DNA nas experiências *in vitro* realizadas em [8]-[10] com as enzimas *resolvase* e *integrase* (Subseções 5.1.2 e 5.1.3, respectivamente), onde utilizaremos os resultados dessas experiências na construção do modelo matemático. Na Seção 5.2, apresentamos de forma detalhada o modelo tangle, que tem por objetivo fornecer a topologia do complexo sináptico em um único evento de recombinação. Mostramos como é feita a modelagem matemática (Subseção 5.2.2) nos momentos da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação associando cada um desses momentos aos tangles de dois fios (*2-tangles*). Essa modelagem produz as equações tangle, sendo que suas soluções dependem (Subseção 5.2.3) dos tangles envolvidos serem racionais. Na Seção 5.3, apresentamos as soluções das equações tangle aplicadas ao modelo de recombinação *resolvase*. Finalmente, na Seção 5.4 apresentamos as conclusões desse capítulo.

Com base nas experiências laboratoriais realizadas em [9]. Wasserman e Cozzarelli observaram que os tangles de interesse eram racionais e a maioria dos produtos de recombinação eram tranças de 4 fios (*4-plats*). Através destas observações, foram feitas suposições biológicas e matemáticas com o objetivo de facilitar a compreensão das equações tangle que descrevem o mecanismo enzimático da pré-recombinação e da pós-recombinação. Para detectar quais tangles eram racionais, foram utilizados alguns teoremas basea-

dos nos modelos de recombinação *resolvase* e *integrase*, os quais possibilitaram a construção do **modelo tangle**[14]-[19].

Nosso objetivo é mostrar que o potencial desse método está na capacidade de ajudar na compreensão de alguns problemas, tais como:

1. Determinar o número de produtos necessários para caracterizar o mecanismo enzimático;
2. O potencial do método quanto às análises topológicas dos substratos e dos produtos, uma vez que se conheça o mecanismo enzimático.

5.1 O Complexo Sináptico e a Recombinação Sítio-Específica

Nesta seção, primeiramente descrevemos o complexo sináptico comparando-o aos tangles de dois fios. Em seguida, apresentamos as experiências laboratoriais realizadas em [8]-[10] com as enzimas *resolvase Tn3* e *integrase*, no qual utilizaremos os resultados desses experimentos para a construção do modelo tangle na Seção 5.2.

Como podemos verificar na Seção 2.7 do Capítulo 2, a recombinação sítio-específica é uma maneira natural de alterar o código genético de um organismo, seja pelo movimento de um bloco de DNA para uma outra posição na mesma molécula (**movimento executado pela transposase**), ou pela integração de um bloco de DNA em um genoma hospedeiro (**movimento executado pela integrase**).

Um sítio de recombinação para uma enzima de recombinação sítio-específica, **recombinase**, é um pequeno pedaço de DNA duplex, cujo código é reconhecido pela enzima sendo que a mesma realiza a justaposição de um par de sítios, na mesma ou em diferentes moléculas. A justaposição dos pares de sítios é o resultado da manipulação enzimática do DNA ou do movimento aleatório térmico, ou ainda de ambos. A enzima recombinase ata-se ao substrato do DNA, executando uma ou mais rodadas de recombinação, e em seguida libera o produto. Esse processo pode ser dividido em dois estágios: a **sinapse** e a **troca de fios**, conforme ilustra a Figura 5.1.

Os sítios justapostos são atados pela enzima. Esse estágio da reação é chamado **sinapse**, e o complexo formado pelo substrato junto com a enzima atada é chamado de **complexo sináptico**. Em um único evento de recombinação, durante a troca de

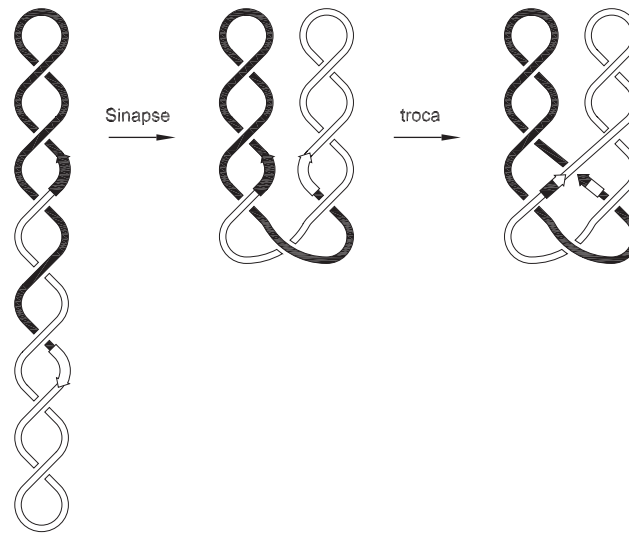


Figura 5.1: Estágios da recombinação sítio-específica.

fio, a enzima executa uma quebra do “fio-duplo” em cada sítio, recombina os finais formando um cruzamento, e então libera a molécula (ou moléculas) resultante. Dois tipos de manipulação do DNA ocorrem na recombinação: na sinapse ocorre um movimento global, chamado **isotopia ambiente global** (indicado pela flecha preta); e na troca de fios ocorre um **movimento local** (indicado pela flecha branca). A molécula de DNA não atada pela enzima recombinase antes da recombinação é chamada de **substrato** e depois da recombinação de **produto**. Ao complexo enzimático e a parte do DNA que está atada à enzima chamamos de **sinaptosome**.

No processo de recombinação sítio-específica, o que nos interessa são as mudanças topológicas que ocorrem do substrato para o produto. Para capturar algumas dessas mudanças topológicas, criam-se moléculas de DNA duplex com ambos sítios na mesma molécula. A sequência linear dos pares de base induz uma orientação local em cada sítio, e a orientação local de cada sítio induz uma orientação global no DNA circular. Se as orientações induzidas pelos dois sítios *concordam*, essa configuração é chamada **repetições diretas**, e se *discordam* é chamada **repetições inversas**.

As repetições diretas ou inversas podem alterar o produto quando um mesmo substrato é usado. Para uma melhor compreensão, observe as Figuras 5.2 e 5.3. Por exemplo:

1. Se o substrato é formado por um DNA circular com repetições diretas, o produto da recombinação é um par de DNA circular, podendo formar uma Catenane;
2. Se o substrato é formado por um par de DNA circular com um sítio em cada, o

produto da recombinação é um DNA circular, podendo formar um Nó;

3. Se o substrato é formado por um DNA circular com repetições inversas, o produto da recombinação é um DNA circular podendo formar um Nó.

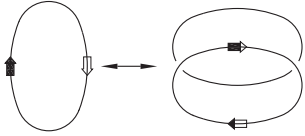


Figura 5.2: Repetições Diretas.

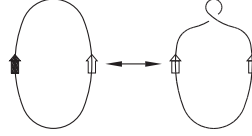


Figura 5.3: Repetições Inversas.

Para identificar a estrutura topológica desses Nós e Catenanes, uma combinação de métodos biológicos e topológicos foi feita. O método biológico que utiliza a técnica de cobertura de proteínas, desenvolvida por Wasserman e Cozzarelli em [8], possibilitou pela primeira vez a visualização do DNA nosado. Esta técnica possibilita desenhar as projeções planares dos produtos resultantes da recombinação de um experimento que envolve rodadas sucessivas da recombinação do DNA e examinar a estrutura topológica resultante desses produtos de recombinação.

5.1.1 Discussão da aplicação de tangles racionais para análises de recombinação do DNA

Nesta subseção demonstraremos, passo-a-passo, como associar os momentos da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação aos tangles. O entendimento dessa associação é fundamental para a compreensão da Subseção 5.2.3, onde discutiremos a necessidade dos tangles serem racionais.

Nos experimentos laboratoriais [8] e [9] o sinaptosome é visto como uma massa preta atada ao DNA supertorcido separando-o em dois domínios, a parte atada e a parte não atada pela enzima (Figura 5.4). Nesses experimentos, algumas observações fundamentais para a construção do modelo matemático foram feitas:

1. Os pares de fios do DNA se entrelaçam;
2. Um par de sítios atado pela enzima forma um tangle de dois fios (*2-tangle*);
3. A maioria dos produtos resultantes da recombinação de um substrato trivial é uma trança de 4 fios (*4-plat*);

4. Os tangles e a tranças de 4 fios são formados por pares de torções de fios que se entrelaçam.

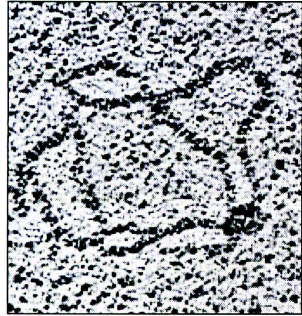


Figura 5.4: Sinaptosome.

Com base nas observações laboratoriais [9], associamos os momentos da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação aos tangles de dois fios, da seguinte forma:

1º) Pré-recombinação: No momento da pré-recombinação, fazemos uma associação dos pares de fios do DNA plectnêmico supertorcido às configurações dos pares de fios dos **tangles racionais**, e as enzimas vistas frequentemente na forma globular associamos à definição da bola tridimensional para tangles racionais.

2º) Recombinação: No momento da recombinação, fazemos uma associação da reação enzimática entre enzima e DNA atado pela enzima às configurações do tangle de dois fios, chamado tangle DNA-enzima, obtidos por uma combinação de **torções simples** e a **operação da adição**.

3º) Pós-recombinação: No momento da pós-recombinação, fazemos uma associação dos produtos resultantes do processo de recombinação aos **numeradores** dos **tangles racionais**, podendo ser deformado continuamente dentro do limite da bola tridimensional até seus diagramas mínimos, os Nós racionais.

A idéia da associação da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação aos tangles de dois fios é usar a **adição de tangles** para descrever possíveis recombinações da molécula de DNA. Através de seus invariantes topológicos (as frações dos tangles), limitamos as possibilidades dos produtos resultantes do processo de recombinação. Uma vez que se conheça estes produtos, usaremos a sua topologia para deduzir o mecanismo

de recombinação do DNA.

Feitas as associações dos passos biológicos aos tangles de dois fios e a operação da adição de tangles, é muito provável que os tangles envolvidos no momento da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação sejam tangles racionais. Esses são os primeiros argumentos naturais, nos quais Ernest e Sumners, [14]-[17], discutiram a racionalidade. Admitiram que os tangles envolvidos eram racionais e então propuseram o modelo tangle, que apresentaremos na Seção 5.2.

Muitas enzimas, tais como: *resolvase Tn3*, *integrase*, *gin*, *hin* e *mu* que mediam mudanças no DNA supertorcido, na replicação e recombinação, são usadas para análises de tangles. Nesta dissertação estaremos trabalhando somente com as enzimas *resolvase Tn3* e *integrase*.

5.1.2 Resolvase Tn3, in vitro

Nesta subseção, apresentamos os métodos laboratoriais usados com a enzima *resolvase Tn3* em substratos de DNA circular duplex [9]. Os resultados dessas experiências são fundamentais para a construção do modelo tangle.

A enzima *resolvase Tn3* foi a primeira recombinase onde se aplicou a teoria dos tangles. Essas experiências, foram de importância fundamental para a compreensão e dedução do mecanismo enzimático, bem como a construção de um modelo matemático capaz de prever os produtos resultantes das rodadas de recombinação *resolvase*.

Neste tipo de recombinação sítio-específica, Wasserman e Cozarrelli [9] usaram uma recombinase sítio-específica, a *resolvase Tn3*, que reage com certos substratos de DNA circular duplex com sítios repetidos diretamente.

Nessas experiências, inicia-se com um substrato de DNA, que possui a forma de um Nó trivial supertorcido, e o trata com *resolvase*. Essa enzima age atando-se ao DNA circular, mediando um único evento de recombinação e liberando o produto.

A *resolvase* não age em Catenanes de DNA livres (moléculas de DNA que não estão atadas pela enzima), pois a enzima não pode lidar com a justaposição dos locais quando estes estão em moléculas diferentes. Entretanto, foi observado nas experiências com *resolvase*, que uma vez em cada vinte encontros entre a enzima e o substrato, ela age processivamente ao longo de um segmento contínuo do DNA, isto é, depois da formação do complexo sináptico, no qual os sítios para serem recombinados são alinhados pela enzima, o processo da troca ocorre usualmente uma vez, mas é repetido ocasionalmente.

Através do encontro em que a enzima age processivamente, é que foi possível a determinação da estrutura dos produtos, Nós ou Catenanes, dessas rodadas extras de recom-

binação. Com isso, foi possível analisar as ações enzimáticas e modelar matematicamente esse mecanismo enzimático específico para a recombinação *resolvase Tn3*.

Estudos topológicos sobre a discussão da racionalidade, têm fornecido uma informação precisa sobre os detalhes do complexo sináptico *resolvase* e do processo da troca de fios, como ilustra a Figura 5.5. O primeiro resultado importante obtido dessa recombinação é a trança de 4 fios (*4-plat*) $\langle 2 \rangle$, Catenane com interligação única conhecida como **Hopf Link**, que é o produto da primeira rodada de recombinação.

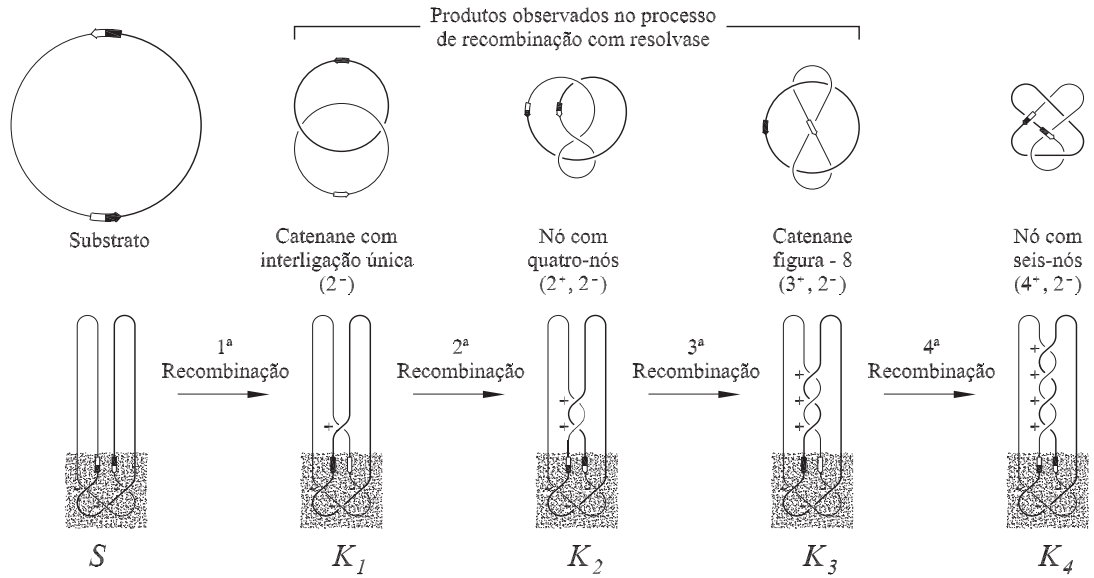


Figura 5.5: Produtos de recombinação pelo sistema resolvase.

Observe na Figura 5.5 que durante a recombinação a enzima atua em ambos os sítios-específicos do DNA, formando assim, dois domínios que são representados por uma linha grossa e uma fina. Os sítios *res* (sítios que estão atados pela enzima *resolvase*) são alinhados paralelamente pela enzima com três cruzamentos (-) interdominais (nós que são formados pelo cruzamento de domínios diferentes), que permanecem fixos devido à ação enzimática. Para cada rodada de recombinação é introduzido um cruzamento (+). Consideramos S o substrato, e K_1 , K_2 , K_3 , e K_4 como sendo os quatro primeiros produtos das rodadas de recombinação.

Nesta experiência [9], microscópios eletrônicos revelaram os produtos de recombinação com menores números de cruzamentos:

- Para a primeira rodada de recombinação, temos:

$K_1 = \langle 2 \rangle$ que é o *Hopf Link*;

- Para a segunda rodada de recombinação, temos:

$K_2 = \langle 1, 1, 2 \rangle$ que é o *Nó figura 8*;

- Para a terceira rodada de recombinação, temos:

$K_3 = \langle 1, 1, 1, 1, 1 \rangle$ que é o *Whitehead Link*;

- Para a quarta rodada de recombinação, temos:

$K_4 = \langle 1, 2, 1, 1, 1 \rangle$ que é o *Nó 6_2^** .

Observou-se que nas três primeiras rodadas de recombinação os produtos resultantes eram sempre os mesmos, só que a partir da quarta rodada surgiam vários produtos com o mesmo número de cruzamentos, dificultando assim, a obtenção e dedução do produto correto que descrevia esse processo de recombinação. Para solucionar este problema um novo mecanismo para *resolvase* foi proposto e novas experiências, acompanhadas pelo processo de gel electrophoresis, foram propostas para detectar o *Nó 6_2^** previamente deduzido. A descoberta do *Nó 6_2^** fundamentou o modelo tangle.

5.1.3 Integrase fago lambda (λ), in vitro

Nesta subseção, apresentamos, de maneira sucinta, o mecanismo de recombinação sítio-específica que utiliza a enzima *integrase* [9]. Os resultados desses experimentos são comparados a duas famílias de Nós racionais.

A recombinação sítio-específica que ocorre quando a recombinase liga-se a ambos os sítios de recombinação na molécula de DNA, produz uma inserção. Um exemplo bem estudado, é fornecido pela integração dos chamados fagos temperados (vírus que nem sempre matam seus hospedeiros), dos quais o fago lambda (λ) é o mais entendido. Bacteriófago, ou simplesmente fago, é um vírus específico para bactérias.

Na recombinação sítio-específica do bacteriófago λ de *Escherichia coli*, o DNA do vírus infecta a bactéria *E. coli*, podendo formar um anel de segmento duplo quando se insere na bactéria. Sob certas condições, o DNA viral pode inserir-se no DNA hospedeiro. Essa reação é catalisada por uma enzima chamada *integrase λ* que é codificada pelo DNA viral. A *integrase* age cortando os anéis do DNA viral e do DNA bacterial, e ligando os finais cortados, para que o DNA viral se torne um segmento do cromossomo bacterial.

Os resultados experimentais utilizando a recombinação sítio-específica *integrase* fago lambda (λ), podem ser encontrados em [9] e [10]. Nessas experiências, a enzima reage

com substratos de DNA circular duplex supertorcidos da forma plectonêmica, isto é, DNA que possui supertorções negativas com sentido direito, e a *integrase*, age em sítios repetidos diretamente ou em sítios repetidos inversamente. Observou-se que uma rodada de recombinação, especificamente para repetições inversas, produz a família de Nós de DNA trança de 4 fios (*4-plat*) $\{\langle -(2k+1) \rangle : 0 \leq k \leq 11\}$; para repetições diretas, produz a família de Catenanes de DNA trança de 4 fios (*4-plat*) $\{\langle -(2k) \rangle : 0 \leq k \leq 11\}$.

Deixamos claro ao leitor que os experimentos dos sistemas de recombinação *resolvase* e *integrase*, foram verificados sob condições isoladas, ou seja, não é considerada nenhuma influência externa. Por exemplo: as mutações na recombinase, omissão de uma proteína necessária e forçar uma reação para prever as supertorções dependentes nas condições das reações, mudariam radicalmente o mecanismo.

Algumas definições são necessárias para a modelagem matemática do mecanismo enzimático baseando-se nos sistemas de recombinação *resolvase* e *integrase*.

Definição 5.1.1. *Orientação Global* é a escolha de uma direção, na qual se caminha em um DNA circular. Uma vez que a escolha é feita, ela não pode ser alterada em nenhum caminho do círculo, e portanto todos os segmentos do DNA possuem a mesma direção global.

Definição 5.1.2. *Orientação Local* é a escolha de uma direção, na qual se caminha em um pequeno segmento do círculo de DNA, e portanto a orientação local não precisa coincidir com a orientação global.

Definição 5.1.3. *Repetições Diretas* é quando a orientação global concorda com a orientação local.

Definição 5.1.4. *Repetições Inversas* é quando a orientação global discorda da orientação local.

5.2 Modelo Tangle

Nesta seção, apresentamos de forma detalhada a construção do modelo tangle, com o objetivo de ilucidarmos as equações tangles obtidas por Ernest e Summners [14]-[18]. As soluções dessas equações caracterizam os tipos de Nós do substrato e do produto.

5.2.1 A estratégia do modelo tangle

Com base na geometria (supertorção) e na topologia (Nós e Catenanes) do substrato e das famílias do produto, o problema em questão é **deduzir o mecanismo enzimático**.

Uma vez que se compreenda o comportamento de uma enzima, em uma situação controlada em laboratório, a próxima etapa é tentar entender o comportamento do empacotamento celular.

O objetivo do modelo tangle é fornecer a topologia do complexo sináptico em um único evento de recombinação, ou seja, computar a estrutura da pré-recombinação e da pós-recombinação do complexo sináptico dando a informação sobre o substrato e sobre o produto.

5.2.2 Modelagem matemática

Nesta subseção, apresentamos de forma detalhada a modelagem matemática da pré-recombinação, da recombinação e da pós-recombinação como tangles racionais, para obtermos as equações tangles.

Quando apresentamos na Seção 5.1, a manipulação geométrica que ocorre no DNA (a sinapse e a troca de fios), chamamos a atenção para o movimento local, pois é neste movimento que ocorrerá a modelagem e análise da estrutura da pré e da pós-recombinação do complexo sináptico. Considere a modelagem matemática da seguinte forma:

- 1º) Modelamos a **enzima** como uma **bola tridimensional** e o **sinaptosome** (bola enzimática e DNA atado), como um **tangle de dois fios**;
- 2º) Modelamos o **substrato** da molécula de DNA como o **numerador fechado da soma dos tangle** $\{O_f, O_b, \text{ e } P\}$, que dá origem à **equação do substrato** $N(O_f + O_b + P)$;
- 3º) Modelamos a **ação da recombinase** como sendo a **substituição** do **tangle P** pelo **tangle R** , conhecida na literatura matemática como uma cirurgia de tangles [5]. A substituição do tangle P pelo tangle R é considerada a primeira rodada de recombinação, que dá origem à **equação do produto** $N(O_f + O_b + R)$.
- 4º) Modelamos as **rodadas sucessivas de recombinação** através da substituição dos tangles:

- Na segunda rodada de recombinação, substituímos o tangle R pelo tangle $R+R$;

- Na terceira rodada de recombinação, substituímos o tangle $R + R$ pelo tangle $R + R + R$;
- Para n rodadas de recombinação, temos a equação: $N(O_f + O_b + nR)$.

As soluções das equações do substrato e dos produtos caracterizam os tipos de Nós do substrato e do produto, sendo necessárias algumas suposições biológicas que descrevem o mecanismo enzimático da molécula de DNA.

Na primeira suposição, Ernest e Sumners em [14] e [15] através dos experimentos laboratoriais com recombinação sítio-específica *resolvase Tn3*, observaram que o mecanismo de recombinação para essa enzima específica era constante, possibilitando assim, o início da modelagem matemática. Mostramos de forma detalhada como ocorreu esse processo:

Suposição Biológica: O mecanismo de enzima (a troca de segmentos modelada pela substituição do tangle P pelo tangle R) em um único evento de recombinação é constante, independente da geometria (supertorções) e da topologia (Nós e Catenanes) da população do substrato.

Entender o mecanismo constante independente da geometria e da topologia do substrato, quer dizer que para as enzimas *resolvase*, uma redução na densidade do substrato supertorcido pode reduzir a extensão da recombinação, mas não altera a geometria (o nosamento ou a catenização) dos produtos [8]-[13]. Além disso, o nosamento e a catenização do substrato muda a topologia dos produtos da reação, mas de uma maneira esperada se o mecanismo enzimático e a estrutura do sinaptosome são idênticos para esse substrato não nosado [12]. Para outras enzimas, tais como a *int*, uma redução na densidade do substrato supertorcido reduz o número médio de cruzamentos no produto, mas deixa o mecanismo enzimático intacto [13].

Na experiência com *resolvase Tn3*, descrita na Subseção 5.1.2, ilustrada pela Figura 5.5, múltiplas rodadas de recombinação ocorrem, e algumas das variáveis aparecem com muita frequência permitindo a solução das equações, onde desejamos modelar as múltiplas rodadas de recombinação em um único evento de recombinação. Existem duas maneiras biológicas, nas quais múltiplas rodadas de recombinação podem acontecer: uma maneira é chamada de **recombinação distributiva**, e a outra é a **recombinação processiva**. Na recombinação distributiva, múltiplas rodadas de recombinação ocorrem em múltiplo encontros entre a enzima e o DNA, enquanto que na recombinação processiva, múltiplas rodadas de recombinação ocorrem em um único encontro, uma situação biologicamente sig-

nificativa, porém mais simples de ser tratada matematicamente. Então Ernest e Sumners, [15], deram início à modelagem matemática considerando a recombinação processiva.

Para ilustrarmos a modelagem matemática da recombinação processiva, fazemos a seguinte suposição matemática.

Suposição Matemática: A recombinação processiva age pela adição de tangles; para cada rodada adicional de recombinação processiva, adicionamos uma cópia do tangle recombinante R .

Como a recombinação processiva ocorre em múltiplas rodadas de recombinação em um único evento de recombinação, então podemos matematicamente dividir o complexo do DNA em três regiões espaciais e quatro tipos de tangles. Em cada figura da Figura 5.6, ilustramos as três regiões espaciais, sendo que os tangles P e R são considerados como a primeira região; o tangle O_b a segunda; e o tangle O_f a terceira, respectivamente.

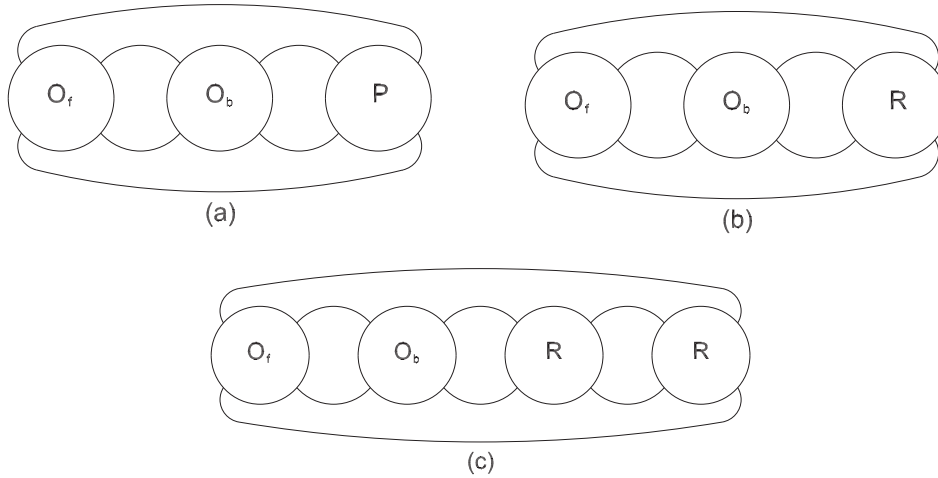


Figura 5.6: Modelo tangle para recombinação processiva.

Considerando a Figura 5.6 (a), (b) e (c) temos:

- A primeira região é o DNA do sinaptosome. A pré-recombinação do DNA nessa região forma o **tangle sítio parental**, P ; a pós-recombinação do DNA nessa região forma o **tangle sítio recombinante**, R ;
- A segunda região, consiste no DNA do sinaptosome que não é mudado durante a recombinação formando o **tangle atado**, O_b ;

- A terceira região, é o restante do DNA no complexo sináptico, exterior do sinaptosome e forma o **tangle livre**, O_f .

De modo a tornar claro o que acontece entre as regiões espaciais e os quatro tipos de tangles, descrevemos a seguinte modelagem:

- 1º) O sinaptosome é modelado como um *2-tangle* e pode ser subdividido na soma de dois tangles $O_b + P$. Os tangles sinaptosomes $\{O_b, P, \text{ e } R\}$ são considerados como variáveis constantes, refletindo as enzimas atadas e o mecanismo. O tangle O_f não é mudado pela recombinação e reflete a geometria e a topologia variável de substratos diferentes. Como nesta dissertação, estamos trabalhando com o mesmo substrato, o tangle O_f não altera a topologia da pré e da pós recombinação, podendo ser considerado;
- 2º) O mecanismo de enzima é modelado como uma cirurgia de tangles, ou seja, **substituição de tangles**, no qual o **tangle parental P** é **removido** do sinaptosome e **substituído** pelo **tangle recombinante R** , veja na Figura 5.6;
- 3º) O complexo sináptico da pré e da pós recombinação é modelado como numerador fechado dos tangles nas variáveis $\{O_f, O_b, P \text{ e } R\}$, da seguinte forma:
 - **Pré-recombinação:** O numerador fechado da soma dos tangles $(O_f + (O_b + P))$, ilustrado na Figura 5.7 (a). Toda topologia interessante na pré-recombinação, está dentro de um dos três círculos. Existem, dois caminhos topologicamente equivalentes para **descrever o substrato**, a saber: 1) **DNA livre** pela enzima, dando origem ao lado esquerdo da equação do substrato; 2) **DNA atado** pela enzima, dando origem ao lado direito da equação (5.1).
 - **Pós-recombinação:** O numerador fechado da soma dos tangles $(O_f + (O_b + R))$, ilustrado na Figura 5.7 (b). Da mesma forma que na pré-recombinação, existem dois caminhos para **descrever** a topologia do **produto**, a saber: **DNA livre** e **DNA atado**, dando origem a equação do produto, (5.2).

O efeito da recombinação na estrutura tangle do complexo sináptico é substituir o **tangle P** pelo **tangle R** . Portanto, se conhecermos a estrutura topológica (tipos de Nós

e Catenanes) do substrato e do produto, um único evento de recombinação produz as duas equações nas quatro variáveis de recombinação $\{O_f, O_b, P$, e $R\}$:

$$\textbf{Equação do substrato: } N(O_f + O_b + P) = \textbf{substrato}; \quad (5.1)$$

$$\textbf{Equação do produto: } N(O_f + O_b + R) = \textbf{produto}. \quad (5.2)$$

Na segunda suposição, Ernest e Sumners, observaram que o processo de recombinação em questão, tratava-se da recombinação processiva, o que possibilitou encontrar a equação tangle para n rodadas de recombinação.

Na recombinação processiva, a transformação de uma rodada recombinante processiva para duas rodadas recombinantes processivas, está na substituição do tangle R pelo tangle $(R + R)$, possibilitando a resolução das equações tangle. Dessa forma, uma nova suposição matemática e biologicamente razoável é apresentada.

Suposição Matemática: Podemos então modelar a recombinação processiva como a adição de n cópias de tangles R , gerando o sistema de equações nas variáveis desconhecidas $\{O_f, O_b, P$, e $R\}$, tais como:

$$\begin{aligned} N(O_f + O_b + R + R) &= 2^{\text{a}} \text{ rodada de recombinação,} \\ N(O_f + O_b + R + R + R) &= 3^{\text{a}} \text{ rodada de recombinação,} \\ &\vdots \\ N(O_f + O_b + nR) &= \textbf{n rodadas de produto}. \end{aligned} \quad (5.3)$$

A suposição (5.3) é o caminho mais simples para representarmos a recombinação processiva diagramaticamente. Além disso, já que os tangles $\{O_f, O_b$, e $R\}$ aparecem em mais de uma equação, podemos com frequência calcular soluções únicas para a recombinação das equações tangle de informações nas primeiras rodadas de recombinação em um substrato relaxado, uma vez que, o resultado de n rodadas de recombinação processiva no sinaptosome $(O_b + P)$ é substituir o tangle P pelo tangle nR . Este método prediz corretamente os produtos de rodadas adicionais da recombinação processiva.

Observe na Figura 5.7, as projeções planares da primeira rodada de recombinação processiva modelada via tangles pelo sistema de recombinação *resolvase* com repetições

diretas. Para melhor compreensão do significado geométrico das equações (5.1), (5.2) e (5.3), estaremos na Seção 5.3 associando-as ao modelo *resolvase*.

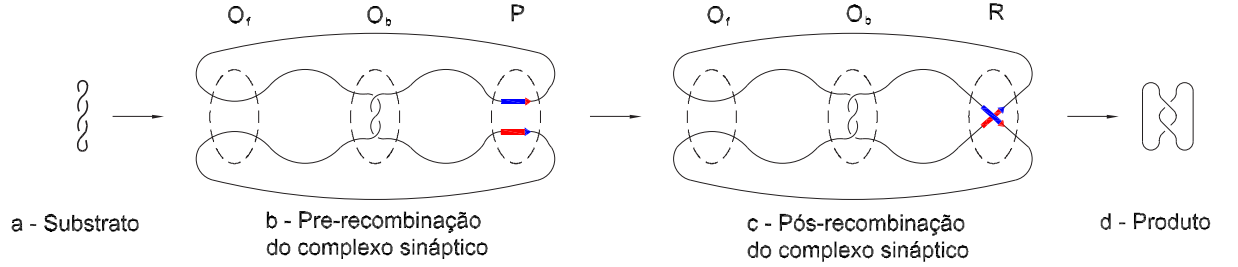


Figura 5.7: Modelo tangle para recombinação processiva.

5.2.3 Tangles racionais na recombinação

Nesta subseção, apresentamos de forma sucinta algumas discussões essenciais sobre a racionalidade dos tangles envolvidos no processo de recombinação processiva e a solução correta do teorema *resolvase* para as soluções das equações tangle, Seção 5.3.

Na análise dos produtos resultantes das experiências com *resolvase Tn3* e *phago λ* , fazemos uso dos resultados recentes em cirurgia de Dehn (*Dehn surgery*), isto é variedades 3-dimensionais [5], para provar que muitas das soluções para as equações tangle são tangles racionais. Da suposição biológica, isto é, que a enzima forma uma bola tridimensional, e que os dois fios do DNA estão no interior da superfície da enzima (ambos antes e depois da recombinação), então a pré e a pós recombinação do complexo sináptico local (os tangles P e R) são tangles racionais. A simplicidade dos sistemas *resolvase* e *integrase*, força a racionalidade de muitas das soluções tangle.

Vários teoremas propostos por Ernest e Sumners [14]-[17], comprovam a racionalidade dos tangles envolvidos no processo da recombinação processiva, dentre eles: o teorema dos produtos primos; o teorema da colisão aleatória; o teorema da recombinação processiva; o teorema *resolvase*; o teorema *gin*; o teorema *int*, [17]. Esses teoremas sustentam a racionalidade dos tangles envolvidos e dão informações suficientes sobre os tangles $\{O, P$ e $R\}$ para que as equações tangle sejam resolvidas. Os conceitos matemáticos usados na demonstração desses teoremas não são triviais, exigindo conhecimento sobre espaços de cobertura ramificadas tridimensionais e algébricos envolvendo tangles algébricos, a cirurgia de Dehn em variedades tridimensionais e a teoria dos espaços lenticulares, o que nessa dissertação estaremos apenas utilizando os resultados dos teoremas *resolvase* e *integrase* associando-os às equações tangle.

Na Subseção 5.1.2, apresentamos os produtos resultantes da recombinação processiva no modelo *resolvase* e a dificuldade em detectar qual dos produtos para a quarta rodada de recombinação seria o correto. Lembrando, a primeira rodada de recombinação produziu a Catenane $\langle 2 \rangle$, (*Hopf Link*); a segunda rodada produziu o Nó 4 $\langle 2, 1, 1 \rangle$, (a *Nó figura 8*); a terceira rodada produziu o Nó 5 (+) $\langle 1, 1, 1, 1, 1 \rangle$, (o *Whitehead link*); e a quarta rodada produziu uma composição de Nó 6 consistindo do Nó 4 com um *Nó trivial*, em abundância. Dados esses produtos, então um novo mecanismo para a *resolvase* foi hipotetizado e um novo experimento proposto para detectar qual Nó 6_2^* seria correto. O problema experimental estava em separar o Nó 6_2^* , raro na abundância de produtos, através do processo de gel eletrophoresis. A descoberta do Nó 6_2^* $\langle 1, 2, 1, 1, 1 \rangle$, (*Whitehead Link*), fundamentou o modelo tangle, baseando-se em dois teoremas para o mecanismo *resolvase Tn3*. Esses resultados são descritos a seguir.

Teorema 5.2.1. *Suponha que os tangles O_b, P e R satisfaçam as seguintes equações:*

- (i) $N(O_b + P) = \langle 1 \rangle$, (o *Nó trivial*), *substrato*;
- (ii) $N(O_b + R) = \langle 2 \rangle$, (o *Hopf Link*), *1ª rodada*;
- (iii) $N(O_b + R + R) = \langle 1, 1, 2 \rangle$ (o *Nó figura 8*), *2ª rodada*.

Então, existem quatro possíveis soluções para os tangles O_b, P e R , tais como:

$$\begin{aligned}
 \{O_b, R\} &= \{(-3, 0), (1)\}, \\
 &= \{(3, 0), (-1)\}, \\
 &= \{(-2, -3, -1), (1)\}, \text{ ou} \\
 &= \{(2, 3, 1), (-1)\},
 \end{aligned} \tag{5.4}$$

Em (5.4), temos quatro tipos de substratos diferentes, $(-3, 0)$, $(3, 0)$, $(-2, -3, -1)$ e $(2, 3, 1)$, que caracterizam a equação do substrato $N(O_b + P)$, e dois tipos de cruzamentos diferentes, $\langle \pm 1 \rangle$, que caracterizam o tangle R .

Para a terceira rodada de recombinação, Ernest e Sumners, [17], provaram que: o tangle O_b é racional, o tangle R tem que ser do tipo positivo $\langle 1 \rangle$, portanto integral. Com esses resultados, o número de incógnitas diminuiu e um novo mecanismo foi hipotetizado, permitindo a solução correta do substrato para a quarta rodada de recombinação, encontrando as informações sobre os tangles O_b, P e R . A caracterização desse resultado vem do seguinte teorema.

Teorema 5.2.2. *Suponha que os tangles O_b, P e R satisfaçam as seguintes equações:*

- (i) $N(O_b + P) = \langle 1 \rangle$, (o Nó trivial), substrato;
- (ii) $N(O_b + R) = \langle 2 \rangle$, (o Hopf Link), 1ª rodada;
- (iii) $N(O_b + R + R) = \langle 1, 1, 2 \rangle$ (o Nó figura 8), 2ª rodada;
- (iv) $N(O_b + R + R + R) = \langle 1, 1, 1, 1, 1 \rangle$ (o Nó 6_2^*), 3ª rodada.

Então:

$$O_b = \{(-3; 0)\}; \quad R = \{(1)\},$$

e

$$N(O_b + R + R + R + R) = \langle 1, 2, 1, 1, 1 \rangle, \quad 4^\text{a} \text{ rodada.}$$

As demonstrações dos Teoremas 5.2.1 e 5.2.2 podem ser encontradas em [17], e sustentam a suposição de que o tangle substrato O , o tangle recombinante R e todos os tangles $O + nR$ são racionais. Realmente, se assumirmos que O é racional e que $O + R$ é racional, então segue que R é um tangle integral. Portanto, O e R necessariamente formam uma "máquina de tricô" para o DNA sob essas condições. É relativamente natural supor que O é racional tendo como argumento a simplicidade dos cálculos. Por outro lado, não é óbvio que o tangle recombinante seja um inteiro. O fato de que os produtos dos experimentos de recombinação do DNA são Nós e Catenanes, sob a hipótese de tangle racional, implica na recombinação de tangles integrais, devido ao fato de que o numerador da soma de dois tangles racionais é sempre um Nó ou um Link racional. De fato, é nesse ponto que conceitos topológicos mais gerais são necessários para mostrar que certos produtos racionais são considerados como uma "máquina de tricô" gerada por $Kn = N(O + nR)$, onde O e R são tangles arbitrários implicando na racionalidade dos tangles $O + nR$. Para detalhes dessa aproximação, sugerimos a leitura dos artigos [15], [18] e [22].

Sob o ponto de vista biológico, uma outra forma de argumentar é descrita a seguir. Note que a terceira rodada de recombinação determina qual dessas quatro soluções é a correta. Para isso, é necessário que o produto de recombinação seja *quiral* (não seja equivalente à sua imagem refletida). Sem um produto *quiral*, o resultado será sempre um número par de soluções. Tal evidência está disponível no caso da recombinação sítio-específica com repetições diretas, o resultado de três rodadas de recombinação processiva $Tn3$ é o *Whitehead Link*, que é *quiral* (como um link não orientado). Esse produto quiral

determina a solução correta biologicamente para $\{O_b; R\}$, e prediz o resultado de quatro ou mais rodadas de recombinação processiva em um único encontro.

Concluimos que no DNA nosado produzido pelas sucessivas rodadas de recombinação processiva por Wasserman. e Cozarreli [9] é consistente com a hipótese (resultados dos teoremas) de que todas as recombinações são do tipo um cruzamento positivo $[+1]$ e o DNA atado pela enzima forma um tangle racional. Matematicamente, Ernest e Sumners [14]-[17], provam que para a recombinação processiva em substratos triviais, o tangle O é racional e o tangle R é integral. Sem esses resultados, as equações tangles dificilmente seriam resolvidas, dessa forma, então propuseram o modelo tangle para sucessivas rodadas de recombinação do DNA e mostraram, a importância da topologia na solução de problemas na biologia molecular.

Um outro tratamento matemático da recombinação sítio-específica é demonstrado em [10] no qual o polinômio de Jones é usado. Tal demonstração é feita utilizando os resultados demonstrados por Ernst e Sumners [15], onde em [10], Jones, assume que o tangle sítio parental $P = \langle 0 \rangle$ e o tangle recombinante $R = \langle \pm 1 \rangle$. O conhecimento da topologia do substrato e do produto é então usado para calcular os polinômios de Jones de outros produtos. Isto contrasta com o método tangle, em que resolvemos as equações para obter informações sobre os tangles O_b, P e R .

5.3 Cálculo das Equações Tangle para o Modelo Resolvase Tn3

Nesta seção, apresentamos o procedimento descrito em [14]-[15] para se calcular as soluções das equações tangle nos experimentos de enzimologia topológica. Calculamos as equações do substrato e do produto, que estão associadas aos resultados obtidos através do modelo de recombinação processiva *resolvase* com sítios repetidos diretamente.

Em [15]-[17], foi provado que, dadas as evidências experimentais ou limitando as hipóteses corretas de menor evidência experimental, as equações tangle surgiram dos experimentos com recombinação processiva possuindo soluções únicas para o mecanismo enzimático e para a estrutura do complexo sináptico. Estas soluções únicas são tangles racionais que podem ser obtidos através dos cálculos das equações tangle racionais.

Todo mecanismo enzimático e toda estrutura do complexo sináptico é apresentado na linguagem de tangles racionais e das tranças de 4 fios (*4-plats*). Simplificando as hipóteses biológicas (Subseção 5.2.2) para se calcular as equações tangle associadas ao sistema *resolvase*, temos:

1. O substrato é um *Nó trivial*;
2. O tangle sítio parental P é o tangle zero, $0 - tangle$, e o tangle externo O é racional, isto é, o numerador da soma dos tangles racionais O_f e O_b ;
3. O tangle recombinante R é do tipo $\langle +1 \rangle$;
4. Todos os produtos resultantes da recombinação são tranças de 4 fios, onde os três primeiros produtos possuem até nove cruzamentos;
5. Na recombinação com sítios repetidos diretamente, os produtos são sequências que se alternam entre Catenanes e Nós. Para rodadas ímpares resultam Catenanes e para as rodadas pares resultam Nós;
6. Na recombinação com sítios repetidos inversamente, os produtos são sequências de Nós.

Mostramos a seguir, passo a passo, como obter as projeções planares das rodadas de recombinação, representando os tipos de Nós ou Catenanes que caracterizam os produtos resultantes encontrados nos experimentos laboratoriais.

1º Passo) Denote o substrato por O e rodadas de recombinação por K_n , sendo n o número de rodadas. Exemplo: $K_1, K_2, K_3, \dots, K_n$.

2º Passo) Os cálculos das equações, equação (5.3), das quatro primeiras rodadas do mecanismo de recombinação *resolvase* contendo sítios com repetições diretas, é mostrado a seguir.

$$N(O_b + nR) = Kn \longrightarrow \text{equação do produto} \quad (5.3)$$

$$N\left(\frac{1}{[-3]} + n[1]\right) = \left(\left[\frac{3n-1}{3}\right]\right)$$

- Para $n = 1$, temos:

$$K_1 \longrightarrow \left(\left[\frac{3 \times 1 - 1}{3}\right]\right) = \left(\left[\frac{2}{3}\right]\right),$$

- Para $n = 2$, temos:

$$K_2 \longrightarrow \left(\left[\frac{3 \times 2 - 1}{3}\right]\right) = \left(\left[\frac{5}{3}\right]\right),$$

- Para $n = 3$, temos:

$$K_3 \longrightarrow ([\frac{3 \times 3 - 1}{3}]) = ([\frac{8}{3}]),$$

- Para $n = 4$, temos:

$$K_4 \longrightarrow ([\frac{3 \times 4 - 1}{3}]) = ([\frac{11}{3}]),$$

3º Passo) As projeções planares das quatro rodadas de recombinação do DNA, iniciando de um substrato supertorcido trivial, estão ilustradas através da Figura 5.8.

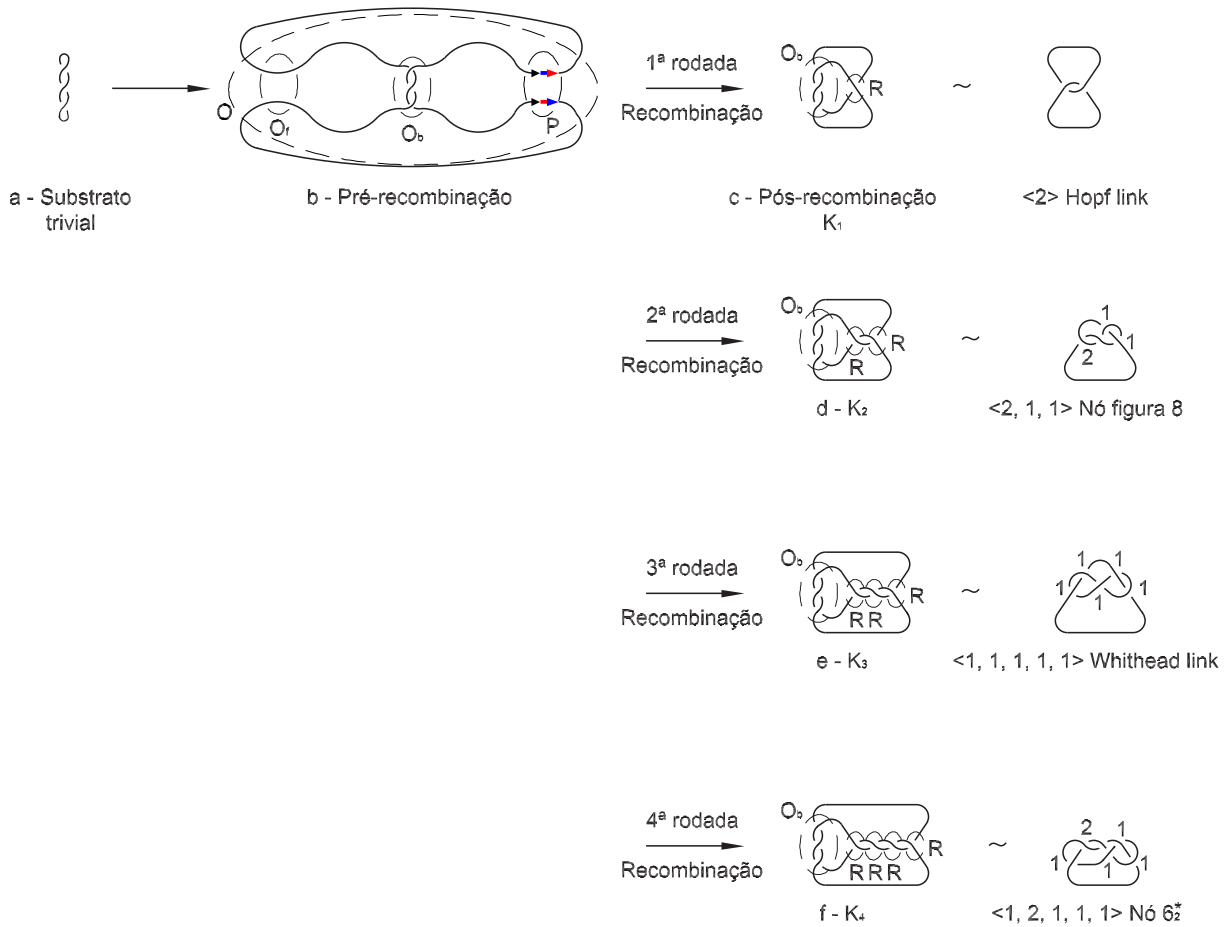


Figura 5.8: Quatro rodadas de recombinação processiva com repetições diretas.

5.4 Conclusões

Os resultados obtidos por Ernest/Sumners e Wasserman/Cozzarelli nos experimentos laboratoriais e demonstrados através do modelo tangle pela enzima *resolvase Tn3* possibilitaram encontrar as soluções tanto sob as hipóteses biológicas como matemáticas, tais que as equações (5.1), (5.2) e (5.3) podem ser resolvidas em função dos tangles O_b e R em um substrato trivial com recombinações processivas, descritas na Seção 5.3. Todavia, existe um número muito grande (aleatório) de enzimas que não agem da mesma forma que a *resolvase Tn3* [20]-[22]. Isto implica que as equações tangle possam apresentar infinitas soluções, um fato a ser comprovado.

Enzimas, tais como as recombinases *Xer* não agem processivamente [20]. Portanto agindo em substratos triviais produzindo um único produto a Catenane $N(4/1)$. Nesse caso, existem somente duas equações para um número infinito de soluções.

$$N(U_1 + P) = \text{Nó trivial} \quad N(U_1 + R) = N(4/1).$$

Para outras recombinases, uma rodada de recombinação resultará em vários produtos, levando também a um número infinito de soluções.

$$N(U_1 + P) = \text{substrato} \quad N(U_1 + R) = \text{produto 1}$$

$$N(U_2 + P) = \text{substrato} \quad N(U_2 + R) = \text{produto 2}$$

$$\vdots$$

$$N(U_n + P) = \text{substrato} \quad N(U_n + R) = n \text{ produtos}$$

Acreditamos que, com o entendimento dos resultados laboratoriais e com a ajuda da modelagem matemática, a recombinação sítio-específica, iniciando com organismos mais simples, como por exemplo os bacteriófagos, pode ser o primeiro passo para a compreensão do empacotamento celular. Desvendar o empacotamento celular não é uma tarefa simples, pois pouco se sabe a respeito do processo biológico inerente. Consequentemente, propostas de modelos matemáticos ficam bastante comprometidos. Os trabalhos realizados, envolvendo modelos matemáticos para o DNA, tiveram como base os sistemas *resolvase* e *integrase* [8] e [9]. Apesar de não estar claro os problemas que envolvem o empacotamento, podemos afirmar seguramente que tais problemas estão inseridos em três situações, quais sejam:

1. Dado o conhecimento topológico do substrato e do produto, deduzir o mecanismo enzimático.

$$(\text{Substrato}) \longrightarrow (\text{Ação enzimática}) (?) \longrightarrow (\text{Produto});$$

2. Dado o conhecimento topológico do substrato e da ação enzimática, deduzir o produto.

$$(\text{Substrato}) \longrightarrow (\text{Ação enzimática}) \longrightarrow (\textbf{Produto}) (?);$$

3. Dado o conhecimento topológico da ação enzimática e do produto, deduzir o substrato.

$$(\textbf{Substrato}) (?) \longrightarrow (\text{Ação enzimática}) \longrightarrow (\text{Produto}).$$

Concluimos, que o modelo tangle é suficientemente capaz para resolver as situações 1. e 2. sob a hipótese de um substrato trivial, demonstrados na Seção 5.3 através das experiências com *resolvase Tn3* e *integrase*. Para a situação 3., é necessário realizar mais experiências laboratoriais em sistemas de recombinação mais complexos, afim de reduzir o número de soluções para o substrato uma vez que envolvem milhares de enzimas.

Capítulo 6

Aplicação do Modelo Tangle e da Descrição Algébrica na Recombinação Sítio-Específica de um Nó Racional.

Neste capítulo apresentamos uma proposta para a aplicação de dois modelos matemáticos capazes de prever todos os produtos gerados através de todas as possibilidades de recombinação em sítios-específicos com repetições inversas de um substrato não trivial, baseando-se nas experiências realizadas com as enzimas *resolvase Tn3* e *integrase*, descritas nas Subseções 5.1.2 e 5.1.3 do Capítulo 5. Estes procedimentos fazem o uso da descrição algébrica e do modelo tangle, descritos nos Capítulos 4 e 5 respectivamente, permitindo uma determinação rigorosa da estrutura das moléculas de DNA que formam Nós e Catenanes. Tais procedimentos fazem parte das linhas de pesquisas apresentadas em [8], [9], [14]-[17] e [23]-[26]. Cada grupo de pesquisadores, utilizou abordagens diferentes nas análises da recombinação do DNA. Nesta dissertação apresentamos cada uma dessas abordagens de forma integrada, permitindo analisar o processo de recombinação sítio-específica através de vários aspectos matemáticos, tais como: topológicos, geométricos e algébricos, possibilitando assim, a proposta de novos modelos matemáticos para a recombinação do DNA.

Mostramos através de exemplos, que é possível determinar tanto no aspecto topológico (tipos de Nós ou Catenanes) quanto nos aspectos algébricos (frações contínuas) e geométricos (projeções planares dos tipos de Nós e Catenanes) a estrutura correta dos produtos resultantes das rodadas de recombinação.

No processo de recombinação abordamos o seguinte caso: a geração de uma série de cruzamentos do tipo (+) ou (-) ao longo de um segmento contínuo do DNA que possui sítios com repetições inversas. Embora este caso não tenha sido considerado em artigos que versam sobre o problema em consideração, não podemos descartar a hipótese de que outras enzimas possam executar esse tipo de recombinação, devido a complexidade das reações enzimáticas. A possibilidade de recombinação que gera uma série de cruzamentos do tipo (+) ou (-) ao longo de um segmento contínuo de DNA possuindo sítios com repetições diretas não serão consideradas nesta dissertação.

Primeiramente, na Seção 6.1 mostramos como se obtém um Nó racional de um tangle racional qualquer e o chamaremos de Nó racional C . Na Subseção 6.1.1, mostramos como o Nó racional C deverá ser orientado para efetuarmos a recombinação. Na Seção 6.2, mostramos como é feita a recombinação do Nó racional C . Nas Subseções 6.2.1 e 6.2.2, definimos respectivamente, as duas possibilidades desse tipo de recombinação, isto é, a geração de um cruzamento (+) ou um cruzamento (-) em cada rodada de recombinação, através da aplicação de dois modelos matemáticos: o modelo tangle e a descrição algébrica para o Nó racional C via frações contínuas. Finalmente, na Seção 6.3 apresentamos as conclusões deste capítulo.

6.1 O Invariante Topológico de um Tangle Racional

Nesta seção apresentamos os procedimentos para se obter o invariante topológico, $\frac{p}{q}$, de um tangle racional. Posteriormente, aplicaremos a operação fechamento neste tangle racional e o definiremos como o Nó racional C . Este Nó será associado a um substrato S onde serão aplicadas todas as possibilidades de recombinação para este Nó racional.

Mostramos a seguir, passo-a-passo, os procedimentos usados para se obter: o invariante topológico de qualquer tangle racional e a classificação de um Nó racional.

Primeiro Passo: Considere como exemplo a projeção planar do tangle racional T (Figura 4.19 do Capítulo 4). Denominaremos o tangle resultante como sendo o tangle racional A . Note que este tangle está na forma torção, e que só é possível obter seu invariante topológico quando estiver na forma canônica. Portanto, temos que colocar o tangle racional A na forma canônica, como resultado teremos o tangle racional C . Isso pode ser feito de dois modos:

1º Modo) Executamos os movimentos isotópicos *hflip* e *vflip* e a operação *rotação de T , T^r* , (Subseções 4.4.2 e 4.3.3 do Capítulo 4) no diagrama do tangle racional A até deixá-lo como um diagrama *alternante* (*mínimo*). Este diagrama *alternante* representa a forma canônica do tangle A que será definido como o tangle racional C , da seguinte maneira:

- ***hflip*** \longrightarrow *flip horizontal*, obtido pela rotação de 180° em torno de um eixo horizontal no plano;
- ***vflip*** \longrightarrow *flip vertical*, obtido pela rotação de 180° em torno de um eixo vertical no plano;
- ***r*** \longrightarrow *rotação de T* , obtido pela rotação de 90° sentido anti-horário no plano.

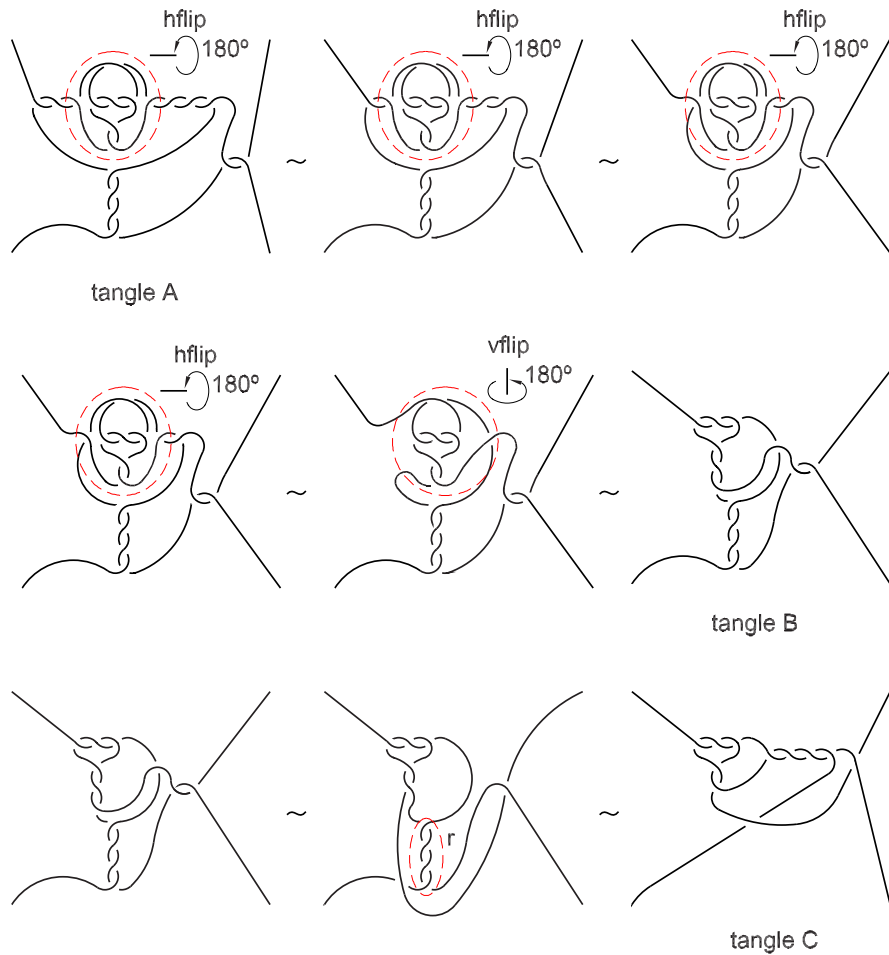


Figura 6.1: Movimentos isotópicos.

Porém, encontrar a forma canônica de um tangle racional executando apenas os movimentos isotópicos não é o mais fácil, pois exige uma certa dose de intuição topológica, dificultando assim a análise correta da estrutura do diagrama tangle. O mais viável é que se faça a análise topológica da estrutura de um diagrama e compará-la à sua descrição algébrica, evitando dessa forma qualquer margem de erro.

2º Modo) Executamos os movimentos isotópicos no diagrama do tangle racional A até deixá-lo na sua forma padrão, o tangle racional B (Figura 6.2). Fazemos a descrição algébrica do tangle B com o objetivo de representá-lo na sua forma canônica (Figura 6.4), tangle racional C , da seguinte maneira:

1º) Através dos movimentos isotópicos já ilustrados na Figura 6.1, transformamos o tangle racional A , que está na forma torção, em um tangle racional B , que está na forma padrão, (Figura 6.2).

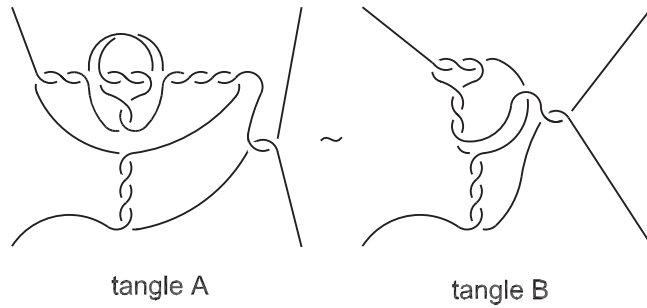


Figura 6.2: Movimentos isotopias.

2º) Da Subseção 4.4.3, Capítulo 4, temos que qualquer diagrama tangle racional T pode ser descrito como:

$$T = ((([a_n] * \frac{1}{[a_{n-1}]}) + [a_{n-2}]) * \dots * \frac{1}{[a_2]}) + [a_1], \quad n \in \mathbb{Z}. \quad (6.1)$$

Representamos o diagrama do tangle B (Figura 6.3) através de sua expressão algébrica, onde:

- As torções horizontais são representadas pelos tangles inteiros $[a]$, $[c]$ e $[e]$;
- As torções verticais são representadas pelos tangles verticais $\frac{1}{[b]}$ e $\frac{1}{[d]}$.

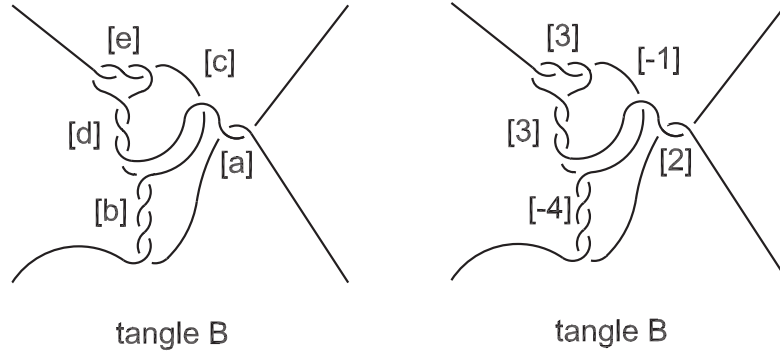


Figura 6.3: Tangle B .

Então, substituindo os tangles referentes às torções da esquerda para a direita no diagrama do tangle racional B na equação (6.1), obtemos a sua expressão algébrica na forma padrão:

$$B = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a]) \longrightarrow B = (((([3] * \frac{1}{[3]}) + [-1]) * \frac{1}{[-4]}) + [2]).$$

3º) Da Subseção 4.4.4, Capítulo 4, temos que o diagrama do tangle racional T pode ser associado a um vetor de inteiros. Esta associação é feita iniciando sempre da direita para a esquerda da seguinte forma:

$$T = (((([a_n] * \frac{1}{[a_{n-1}]}) + [a_{n-2}]) * \dots * \frac{1}{[a_2]}) + [a_1]) \longrightarrow T = (a_1, a_2, a_3, \dots, a_n). \quad (6.2)$$

Então, substituindo os tangles inteiros e verticais do tangle B na equação (6.2), temos:

$$B = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a]) \longrightarrow B = (a, b, c, d, e).$$

4º) Da Definição 4.4.6 da Subseção 4.4.4, Capítulo 4, temos que uma fração contínua de tangles inteiros é a descrição algébrica dos tangles racionais via a construção de frações

contínuas:

$$T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]] := [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}}. \quad (6.3)$$

Portanto, representamos a descrição algébrica do diagrama tangle racional B substituindo os valores dos tangles inteiros e verticais na equação (6.3), da seguinte maneira:

$$B = [[2], [-4], [-1], [3], [3]] \longrightarrow B = [2] + \frac{1}{[-4] + \frac{1}{[-1] + \frac{1}{[3] + \frac{1}{[3]}}}}.$$

Note que o tangle racional B ainda não está na sua forma canônica, pois os inteiros do vetor possuem sinais diferentes.

5º) Obtemos a forma canônica do tangle racional B , da seguinte forma:

- (i) Do Lema 4.5.1 (Capítulo 4), temos que toda fração contínua pode ser transformada em uma única forma canônica, onde a fração de T é um número racional:

$$T = [[a_1], [a_2], \dots, [a_n]] = \left[\frac{p}{q}\right].$$

$$F(T) := [a_1] + \frac{1}{[a_2] + \dots + \frac{1}{[a_{n-1}] + \frac{1}{[a_n]}}} = [a_1, a_2, \dots, a_n]. \quad (6.4)$$

Então, substituindo os valores do tangle B em (6.4), temos:

$$\begin{aligned} B = [2, -4, -1, 3, 3] &= 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{-1 + \frac{1}{3 + \frac{1}{3}}}} = 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{-1 + \frac{1}{\frac{9+1}{3}}}} \\ &= 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{-1 + \frac{1}{\frac{10}{3}}}} = 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{-1 + \frac{3}{10}}} \\ &= 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{\frac{-10+3}{10}}} = 2 + \frac{1}{-4 + \frac{1}{\frac{-7}{10}}} \\ &= 2 + \frac{1}{-4 - \frac{10}{7}} = 2 + \frac{1}{\frac{-38}{7}} = \frac{69}{38}. \end{aligned}$$

Portanto,

$$B = [2, -4, -1, 3, 3] = \frac{69}{38} \longrightarrow F(B) = \frac{69}{38}. \quad (6.5)$$

- (ii) Através da *fração* do tangle B , (6.5), determinamos o seu vetor canônico, definido como o tangle racional C :

$$\begin{aligned} \frac{69}{38} &= 1 + \frac{31}{38} = 1 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 1 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\ &= 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\ &= 1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}} \longrightarrow [1] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} = [[1], [1], [4], [2], [3]]. \end{aligned}$$

Portanto,

$$F(B) = \frac{69}{38} = [[1], [1], [4], [2], [3]] \longrightarrow C = [[1], [1], [4], [2], [3]].$$

- (iii) Representamos a expressão algébrica do tangle racional C através do vetor canônico $C = [[1], [1], [4], [2], [3]]$, onde sempre o último inteiro do vetor será o primeiro inteiro na expressão:

$$C = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a]) \longrightarrow C = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [1]).$$

- (iv) Representamos a projeção planar do diagrama tangle racional C (Figura 6.4) através da sua expressão algébrica:

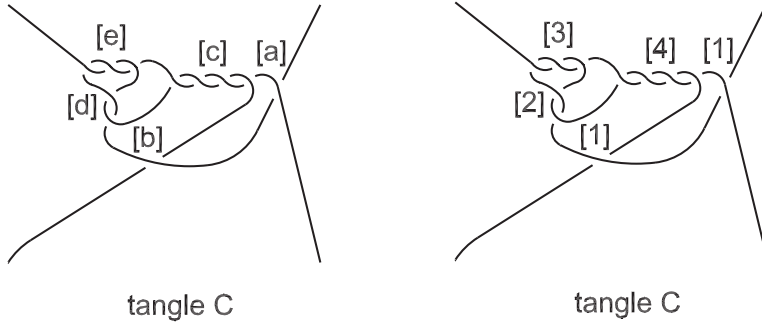


Figura 6.4: Tangle racional C .

Com o vetor canônico do tangle racional C podemos seguramente representar a sua projeção planar.

Segundo passo: Obtemos o invariante topológico do tangle racional C , da seguinte maneira:

- Pelo Teorema de Conway (Teorema 4.4.1, Capítulo 4), temos que dois tangles racionais são isotópicos se, e somente se, eles possuem a mesma *fração*. Dessa forma, temos que:

(i) A *fração* do tangle racional $B \longrightarrow F(B) = \frac{69}{38}$.

(ii) A *fração* do tangle racional $C \longrightarrow F(C) = \frac{69}{38}$.

Logo, B e C são tangles racionais isotópicos pelo Teorema 4.4.1.

- Pela conjunto de resultados (Observação 4.5.1, Capítulo 4), o número racional da *fração* na forma canônica $\frac{p}{q}$ é um invariante topológico. Portanto, $F(C) = \frac{69}{38}$ é o invariante topológico do tangle racional C .

Através dos dois primeiros passos, concluímos que tanto topologicamente quanto algebricamente os tangles A, B e C são isotópicos (Figura 6.5), ou seja, são equivalentes topologicamente, e que a forma canônica do tangle racional C é única, isto é, o tangle racional C possui um número mínimo de cruzamentos que é caracterizado pelo seu invariante topológico $\frac{p}{q} = \frac{69}{38}$.

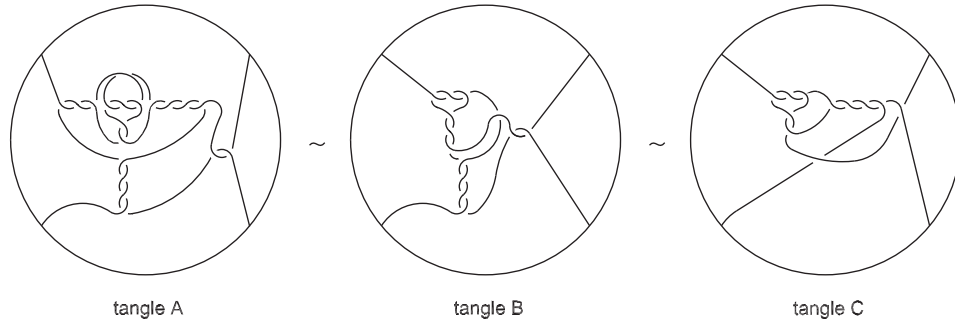


Figura 6.5: Os tangles A , B e C são isotópicos.

Terceiro passo: Aplicamos a operação *numerador* no tangle racional C para classificá-lo como o Nó racional C , da seguinte maneira:

- 1º) Da Subseção 4.3.4 (Capítulo 4), temos que os Nós racionais são classificados através da operação fechamento (*numerador* ou *denominador*) de tangles racionais;
- 2º) Do Colorário 4.3.2 (Capítulo 4), temos que os Nós racionais são alternantes, desde que eles possuam um diagrama que é o fechamento de um tangle racional alternante;
- 3º) Aplicando a operação *numerador* no tangle racional C obtemos o Nó racional C , ilustrado na Figura 6.6.

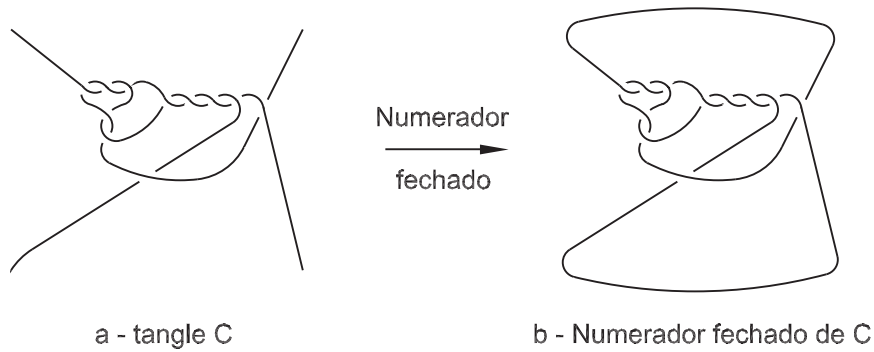


Figura 6.6: O Numerador do tangle racional C , o Nó racional O .

Como o tangle racional C está na forma canônica, ou seja é um diagrama alternante,

temos que o Nó racional C classificado pelo *numerador* do tangle racional C também é alternante.

Através dos procedimentos usados nos três passos anteriores, a partir de agora definimos o Nó racional C como sendo o substrato S não trivial da molécula de DNA que recombinaremos considerando todas as possibilidades de recombinação.

6.1.1 A orientação do substrato não trivial S

Nesta subseção mostramos como deve ser feita a orientação do substrato S não trivial da molécula de DNA na modelagem da recombinação sítio-específica. A aplicação desta modelagem requer orientações específicas no substrato. Nos dois modelos matemáticos em que aplicaremos a recombinação sítio-específica no substrato S , consideramos a orientação do substrato S da seguinte forma:

- 1º) Orientamos o Nó racional C para obtermos a orientação global do substrato, com o objetivo de definir se os sítios são: sítios com repetições diretas (RD) ou inversas (RI), ilustrados na Figura 6.7;

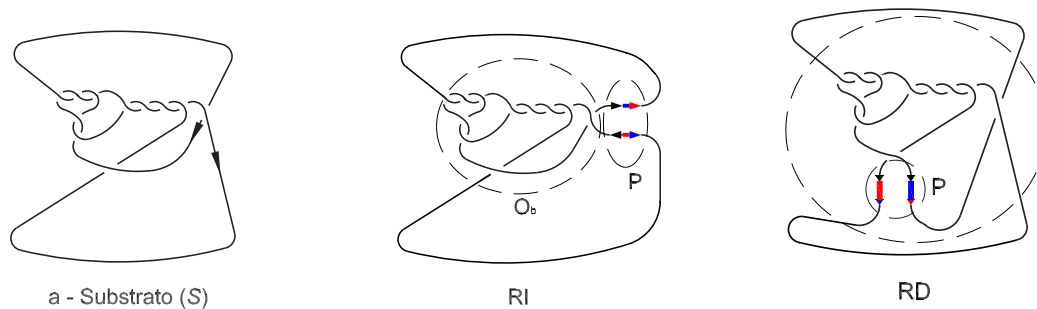


Figura 6.7: Nó orientado, RI, RD.

- 2º) Após a definição dos sítios, desconsideramos a orientação do Nó e seguimos a orientação dos tangles $\{O_f, O_b, P, \text{ e } R\}$ contidos no Nó racional C . Por exemplo, para tais tangles desejamos seguir a mesma orientação do tangle ilustrado na Figura 6.8.

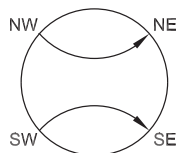


Figura 6.8: Tangle orientado.

Concluindo, usaremos o Nó racional C , definido como o substrato S não trivial de uma molécula de DNA supertorcido no qual será realizada a recombinação. Visualizaremos este substrato S como um Nó racional orientado somente para compará-lo às recombinações obtidas em experiências laboratoriais afim de definirmos os sítios repetidos diretamente ou inversamente, através dos movimentos: global e local. Porém, quando aplicamos os modelos matemáticos (modelo tangle e descrição algébrica) para determinar os invariantes topológicos dos produtos da recombinação, estamos supondo que os sítios se comportam como um Nó racional não orientado, seguindo apenas a orientação do tangle especificado na Figura 6.8.

6.2 Recombinação de um Nó Racional não Trivial, com Sítios Repetidos Inversamente

Nesta seção apresentamos o mecanismo de recombinação do Nó racional C que ocorre em sítios repetidos inversamente. Esse evento de recombinação ocorre quando as recombinases, enzimas que catalisam o processo, reconhecem seqüências curtas específicas em ambos os sítios de recombinação e executam a troca recíproca entre os sítios, que por sua vez são reconhecidos pelas recombinases, podendo gerar cruzamentos (+) ou cruzamentos (-) ao longo de um segmento contínuo do DNA, como poderemos observar nos modelos de recombinações que serão apresentados nas Subseções 6.3.1 e 6.3.2, respectivamente.

Os modelos tangle e descrição algébrica a serem utilizados estão baseados nas experiências de recombinação realizadas em plasmídeos [8] e [9], moléculas de DNAs circulares duplex da forma plectonênimica que possui supertorções negativas com sentido direito, mediada pelas enzimas *resolvase Tn3 in vitro* e *integrase*, descritos nas Subseções 5.1.2 e 5.1.3 do Capítulo 5, respectivamente. Nesse tipo de recombinação, as enzimas agem quase sempre em sítios repetidos diretamente ou em sítios repetidos inversamente.

Nas Subseções 6.2.1 e 6.2.2 respectivamente, apresentamos as propostas da aplicação

dos modelos matemáticos, modelo tangle e frações contínuas, capazes de prever os produtos resultantes das recombinações em sítios com repetições inversas, gerando cruzamentos (+) ou (-), ao longo de um segmento contínuo de um Nó racional não trivial em um contexto até onde é de nosso conhecimento não considerado anteriormente na literatura científica. Analizaremos os resultados obtidos das quatro primeiras rodadas de recombinação considerando os aspectos topológicos, geométricos e algébricos. Este procedimento pode ser generalizado para qualquer processo de recombinação que gere uma série de cruzamentos (+) ou (-) ao longo de um segmento contínuo de um Nó racional de DNA, com sítio repetidos inversamente.

6.2.1 Recombinação gerando um cruzamento (+) em cada rodada da recombinação

Nesta subseção mostramos como determinar os invariantes topológicos dos produtos resultantes das quatro primeiras rodadas de recombinação do Nó racional C , ocorrendo em sítios repetidos inversamente, gerando um cruzamento (+) em cada rodada. Posteriormente, comentamos sobre esses resultados.

Para se determinar os invariantes topológicos, que caracterizam os tipos de Nós de cada produto, utilizaremos a aplicação dos dois modelos matemáticos: a descrição algébrica via frações contínuas e o modelo tangle. Nestes modelos aplicaremos os conceitos e definições descritos nos Capítulos 4 e 5, respectivamente.

Primeiramente, considere como substrato o Nó racional C não trivial, definido como S ; e para os produtos resultantes dessa recombinação definimos K_1, K_2, K_3 , e K_4 como sendo, respectivamente, a primeira, a segunda, a terceira e a quarta rodadas de recombinação. Em seguida, determinamos os invariantes topológicos e as projeções planares para K_1, K_2, K_3 , e K_4 com apenas o conhecimento das projeções planares do substrato, da pré-recombinação e da primeira rodada de recombinação, utilizando a aplicação do modelo tangle e da descrição algébrica via frações contínuas;

Modelo Tangle

1º) Para determinarmos os invariantes topológicos e as projeções planares para K_1, K_2, K_3 e K_4 com apenas o conhecimento das projeções planares do substrato, da pré-recombinação e da primeira rodada de recombinação, conforme ilustra as Figuras 6.9, 6.10 e 6.11, é necessário que se faça as seguintes considerações:

1^a) Para o substrato S (Figura 6.9), temos:

- S é o Nó racional C ;
- A orientação do Nó racional C é feita apenas para a localização e a definição dos sítios (sítios com repetições diretas ou inversas);
- Após a definição dos sítios, consideramos apenas a orientação do tangle racional O , ilustrado na Figura 6.6 da Subseção 6.1.1;

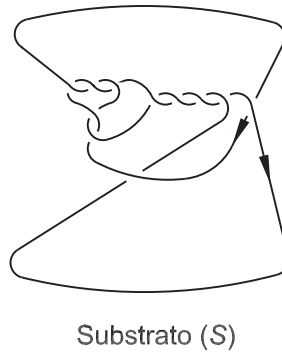


Figura 6.9: Projeção planar do substrato.

2^a) Para a pré-recombinação (Figura 6.10), temos:

- Os tangles racionais O_b e P estão contidos no tangle racional O , através da operação *numerador* e das operações da adição e da multiplicação dos tangles $[a]$, $[b]$, $[c]$, $[d]$ e $[e]$;
- O tangle O_b representa a parte da molécula de DNA que não será alterada em qualquer rodada da recombinação;

- O tangle P representa a enzima atada ao DNA, onde ocorrerá a *troca de segmento*;
- Modelamos o tangle P como sendo o tangle racional trivial zero, portanto $P = 0$;

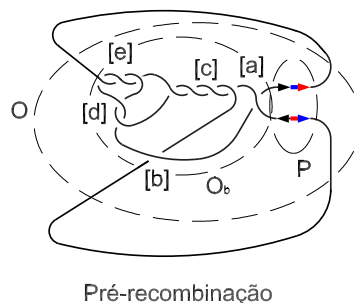


Figura 6.10: Projeção planar da pré-recombinação.

3ª) Para a primeira rodada de recombinação, K_1 (Figura 6.11), temos:

- Os tangles racionais O_b e R estão contidos no tangle racional O , através da operação *numerador* e das operações da adição e da multiplicação dos tangles $[a]$, $[b]$, $[c]$, $[d]$ e $[e]$;
- O tangle R representa o cruzamento (+) que foi gerado pela *troca de segmento*, isto é, o tangle P foi deletado e substituído pelo tangle R ;
- Modelamos o tangle R como sendo o tangle racional inteiro com um cruzamento horizontal positivo $[1]$, portanto $R = 1$;
- Consideramos este sistema de recombinação como sendo um sistema de recombinação processiva, no qual modelamos a substituição do tangle R por nR e assumimos que esta variação esteja ocorrendo sempre no mesmo local do substrato S .

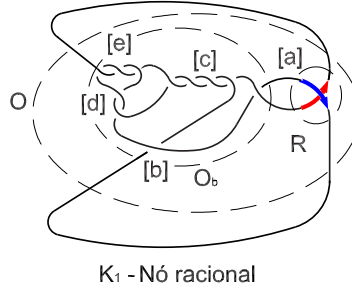


Figura 6.11: Projeção planar da primeira recombinação.

Uma vez estabelecidas as considerações necessárias para aplicarmos o modelo tangle, mostramos como determinar os invariantes topológicos e as projeções planares para K_1 , K_2 , K_3 e K_4 .

1º) Calculamos os invariantes topológicos para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , da seguinte maneira:

(i) Através das Figuras 6.10 e 6.11, obtemos as seguintes equações:

$$\text{Equação do substrato: } N(O_b + P) = \text{substrato} \quad (6.6)$$

$$\text{Equação do produto: } N(O_b + R) = \text{produto} \quad (6.7)$$

$$\text{Equação para } n \text{ rodadas de recombinação: } N(O_b + nR) = K_n \quad (6.8)$$

(ii) Através da Figura 6.11, temos que a configuração do tangle racional O_b é igual às configurações dos tangles racionais O e C . Portanto, o tangle O_b assume os mesmos valores de $[a]$, $[b]$, $[c]$, $[d]$ e $[e]$ descritos no tangle C , Seção 6.1. Então, o invariante topológico do tangle O_b será igual aos invariantes topológicos dos tangles O e C , respectivamente:

$$F(O_b) = F(O) = F(C) = \frac{p}{q} = \frac{69}{38}.$$

Portanto,

$$N[(O_b)] = N[(O)] = N[(C)] = N[\frac{p}{q}] = [\frac{69}{38}].$$

(iii) Substituindo os valores dos tangles O_b, P e R nas equações (6.6) e (6.8), temos:

- $N(O_b + P) = \text{substrato} \longrightarrow N([\frac{69}{38}] + [0]) = ([\frac{69}{38}]);$
- $N(O_b + nR) = K_n \longrightarrow N([\frac{69}{38}] + n[1]) = K_n$

(iv) Através da equação (6.8), encontramos os invariantes topológicos das quatro primeiras rodadas de recombinação da seguinte maneira:

- Para $n = 1$, temos:
 $K_1 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 1[1]) = ([\frac{107}{38}]).$
- Para $n = 2$, temos:
 $K_2 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 2[1]) = ([\frac{145}{38}]).$
- Para $n = 3$, temos:
 $K_3 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 3[1]) = ([\frac{183}{38}]).$
- Para $n = 4$, temos:
 $K_4 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 4[1]) = ([\frac{221}{38}]).$

Note que é possível determinar os invariantes topológicos (a estrutura topológica) para qualquer rodada de recombinação sem precisar saber das rodadas anteriores. Para determinar as projeções planares, que representam os produtos desta recombinação, teremos que desenhar uma-a-uma. Isso dificulta a visualização dessas projeções topológicas. Até onde é de nosso conhecimento, na literatura científica estes invariantes topológicos

(*frações*) são representados pela construção das tranças de 4 fios (*4-plats*), Nós racionais, porém ainda não temos o conhecimento de como isso é feito.

Nesta dissertação utilizaremos as frações contínuas, garantindo dessa forma a determinação das projeções planares para qualquer rodada de recombinação. Não temos o conhecimento de que isto tenha sido feito anteriormente.

2º) Determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , (formato topológicos), da seguinte forma:

(i) Calculamos as frações contínuas de K_1, K_2, K_3 , e K_4 usando o algoritmo de Euclides (Seção 4.5, Capítulo 4):

- Para K_1 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_1 = \frac{107}{38} &= 2 + \frac{31}{38} = 2 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}. \\
 \text{Portanto, } K_1 = \frac{107}{38} &= [2] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + [3]}}} = [[2], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

- Para K_2 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_2 = \frac{145}{38} &= 3 + \frac{31}{38} = 3 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 3 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= 3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}. \\
 \text{Portanto, } K_2 = \frac{145}{38} &= [3] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + [3]}}} = [[3], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

- Para K_3 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_3 = \frac{183}{38} &= 4 + \frac{31}{38} = 4 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 4 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= 4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}, \\
 \text{Portanto, } K_3 = \frac{183}{38} &= [4] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} = [[4], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

- Para K_4 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_4 = \frac{221}{38} &= 5 + \frac{31}{38} = 5 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 5 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 5 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 5 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 5 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= 5 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}, \\
 \text{Portanto, } K_4 = \frac{221}{38} &= [5] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} = [[5], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

(ii) Fazemos a descrição algébrica para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , através de suas frações contínuas:

- Para K_1 , temos:

$$K_1 = [[2], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [2]).$$

- Para K_2 , temos:

$$K_2 = [[3], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [3]).$$

- Para K_3 , temos:

$$K_3 = [[4], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [4]).$$

- Para K_4 , temos:

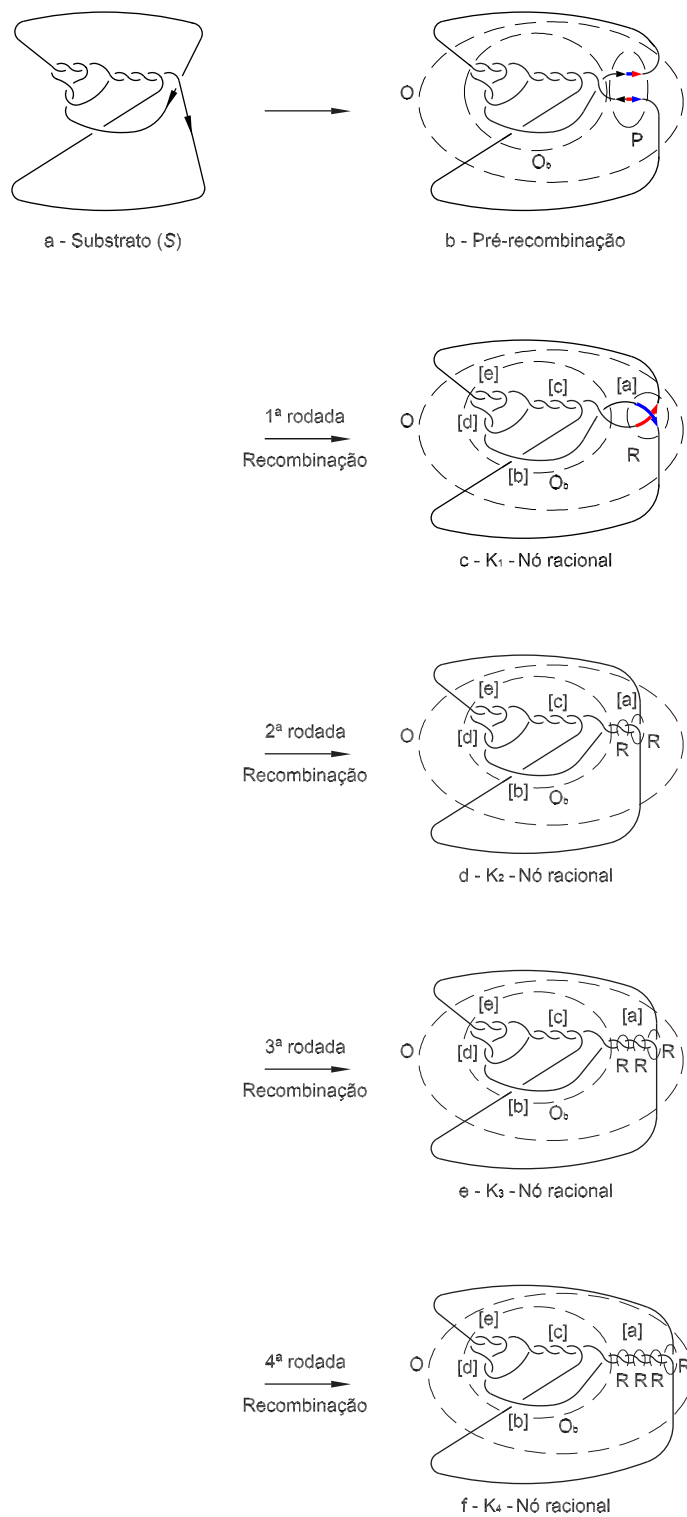
$$K_4 = [[5], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [5]).$$

(iii) Através da expressão algébrica e do vetor canônico para cada rodada de recombinação K_1, K_2, K_3 , e K_4 , representamos as suas projeções planares da seguinte forma:

- (a) Cada valor da expressão algébrica e seu respectivo vetor canônico, $[[a],[b],[c],[d],[e]]$, representam as torções horizontais e verticais intercaladas do tangle racional O para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , o tangle inteiro $[a]$ representa o término das torções e o tangle inteiro $[e]$ representa o início das torções;

$$O = [[a], [b], [c], [d], [e]] = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a]).$$

- (b) Fazemos as projeções planares de cada rodada de recombinação, iniciando com o tangle $[e]$ e terminando com o tangle $[a]$, tomando seu *numerador*. Esse processo representa a forma geométrica para cada rodada de recombinação.



Descrição Algébrica via Frações Contínuas

1º) Calculamos os invariantes topológicos para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , da seguinte maneira:

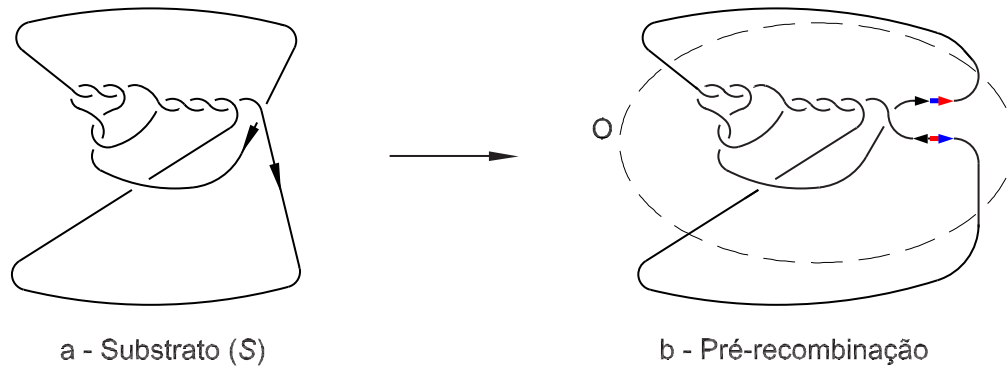


Figura 6.12: Projeções planares do substrato, da pré-recombinação.

(i) Através da Figura 6.12, estabelecemos o local onde ocorrerá a reação enzimática, definido como tangle $[a]$. O local do tangle $[a]$ é o único local na molécula de DNA que estará sofrendo alterações;

(ii) Do tangle racional O , temos:

$$O = [[a], [b], [c], [d], [e]] = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a])$$

$$O = [[1], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [1]);$$

(iii) Em cada rodada de recombinação temos a geração de um cruzamento (+). Então para n rodadas de recombinação teremos a substituição do tangle $[a]$ por um tangle $[a+n]$;

(iv) Tanto no substrato quanto na pré-recombinação, temos que $[a]=[1]$ (Figura 6.12).

Portanto, determinamos o vetor canônico e a expressão algébrica para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , da seguinte maneira:

- Para K_1 , temos:

$$K_1 = [[2], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [2]).$$

- Para K_2 , temos:

$$K_2 = [[3], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [3]).$$

- Para K_3 , temos:

$$K_3 = [[4], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [4]).$$

- Para K_4 , temos:

$$K_4 = [[5], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [5]).$$

(v) Escrevemos cada vetor canônico na forma de sua fração contínua, para encontrarmos os correspondentes invariantes topológicos de K_1, K_2, K_3 , e K_4 :

- Para K_1 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_1 &= [[2], [1], [4], [2], [3]] = [2] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_1 &= [2, 1, 4, 2, 3] = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{7}}} \\
 &= 2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 2 + \frac{1}{1 + \frac{31}{7}} = 2 + \frac{1}{\frac{7}{31}} \\
 &= 2 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 2 + \frac{31}{38} = \frac{107}{38}.
 \end{aligned}$$

Portanto, $K_1 = \frac{107}{38}$.

- Para K_2 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_2 &= [[3], [1], [4], [2], [3]] = [3] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_2 &= [3, 1, 4, 2, 3] = 3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= 3 + \frac{31}{38} = \frac{145}{38}.
 \end{aligned}$$

Portanto, $K_2 = \frac{145}{38}$.

- Para K_3 , temos:

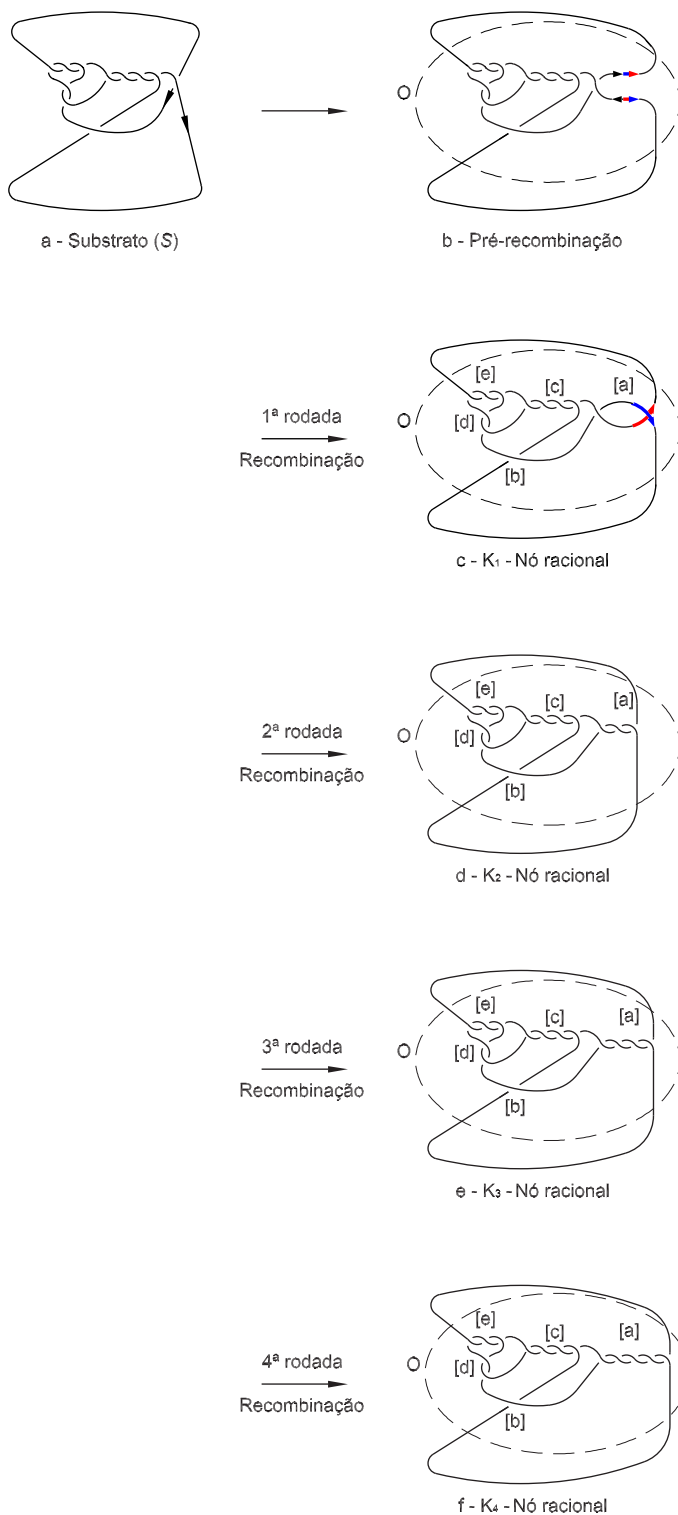
$$\begin{aligned}
 K_3 &= [[4], [1], [4], [2], [3]] = [4] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_3 &= [4, 1, 4, 2, 3] = 4 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= 4 + \frac{31}{38} = \frac{183}{38}. \\
 \text{Portanto, } K_3 &= \frac{183}{38}.
 \end{aligned}$$

- Para K_4 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_4 &= [[5], [1], [4], [2], [3]] = [5] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_4 &= [5, 1, 4, 2, 3] = 5 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= 5 + \frac{31}{38} = \frac{221}{38}. \\
 \text{Portanto, } K_4 &= \frac{221}{38}.
 \end{aligned}$$

2º) Determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 , e K_4 (formas topológicas), da seguinte forma:

Do passo 1º) relativo ao cálculo dos invariantes topológicos, temos os vetores canônicos e suas respectivas expressões algébricas no item (iv). Então determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 e K_4 igualmente apresentado no item (iii) relativo ao modelo matemático anterior (modelo tangle).



Nesta subseção observamos que, através da aplicação do modelo tangle, é possível determinar os invariantes topológicos dos produtos resultantes de qualquer rodada de recombinação de um substrato não trivial com sítios repetidos inversamente gerando uma sequência de cruzamentos positivos, conhecendo apenas as projeções planares do substrato, da pré-recombinação e da primeira rodada de recombinação. Os tangles O_b , P e R representam a sinapse e a troca de fio no DNA. Desta forma, confirmamos que neste tipo de recombinação, é possível obter informações inerentes a qualquer produto resultante das rodadas de recombinação, tendo apenas informações do substrato e da ação enzimática. Comprovamos assim a eficiência do modelo tangle.

Observamos ainda que, através da aplicação da descrição algébrica via frações contínuas nesta recombinação, é possível determinar os invariantes topológicos bem como as projeções planares para qualquer rodada de recombinação, tendo apenas o conhecimento do substrato e da ação enzimática.

6.2.2 Recombinação gerando um cruzamento (-) em cada rodada da recombinação

Nesta subseção mostramos como determinar os invariantes topológicos dos produtos resultantes das quatro primeiras rodadas de recombinação do Nó racional C , ocorrendo em sítios repetidos inversamente, gerando um cruzamento (-) em cada rodada. Posteriormente, comentamos sobre esses resultados.

Embora, o procedimento seja o mesmo que da Subseção 6.2.1, para o cálculo dos invariantes topológicos correspondentes aos produtos resultantes de cada rodada de recombinação do Nó racional não trivial C e suas respectivas projeções planares, algumas deferências de interpretação ocorrerão.

Modelo Tangle

1º) Para determinarmos os invariantes topológicos e as projeções planares para K_1, K_2, K_3 e K_4 com apenas o conhecimento das projeções planares do substrato, da pré-recombinação e da primeira rodada de recombinação, conforme ilustra as Figuras 6.13, 6.14 e 6.15, é necessário que se faça as seguintes considerações:

1ª) Para o substrato S (Figura 6.13), temos:

- S é o Nó racional C ;
- A orientação do Nó racional C é feita apenas para a localização e a definição dos sítios (sítios com repetições diretas ou inversas);
- Após a definição dos sítios, consideramos apenas a orientação do tangle racional O , ilustrado na Figura 6.6 da Subseção 6.1.1;

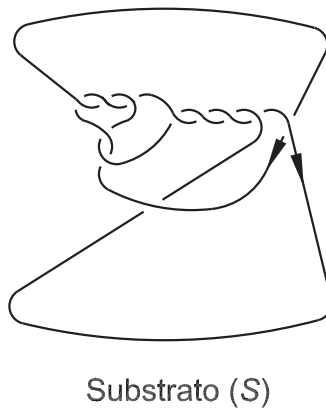


Figura 6.13: Projeção planar do substrato.

2^a) Para a pré-recombinação (Figura 6.14), temos:

- Os tangles racionais O_b e P estão contidos no tangle racional O , através da operação *numerador* e das operações da adição e da multiplicação dos tangles $[a]$, $[b]$, $[c]$, $[d]$ e $[e]$;
- O tangle O_b representa a parte da molécula de DNA que não será alterada em qualquer rodada da recombinação;

- O tangle P representa a enzima atada ao DNA, onde ocorrerá a *troca de segmento*;
- Modelamos o tangle P como sendo o tangle racional trivial zero, portanto $P = 0$;

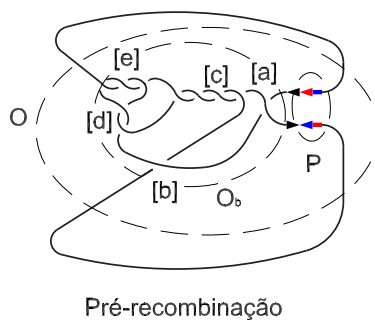


Figura 6.14: Pré-recombinação.

3^a) Para a primeira rodada de recombinação, K_1 (Figura 6.15), temos:

- Os tangles racionais O_b e R estão contidos no tangle racional O , através da operação *numerador* e das operações da adição e da multiplicação dos tangles $[a]$, $[b]$, $[c]$, $[d]$ e $[e]$;
- O tangle R representa o cruzamento $(-)$ gerado pela *troca de segmento*, isto é, o tangle P foi deletado e substituído pelo tangle R ;
- Modelamos o tangle R como sendo o tangle racional inteiro com um cruzamento horizontal negativo $[-1]$, portanto $R = -1$;
- Consideramos este sistema de recombinação como sendo um sistema de recombinação processiva, isto é, substituímos o tangle R por nR e assumimos que esta variação esteja ocorrendo sempre no mesmo local do substrato S .

$$\text{Portanto, } N[(O_b)] = N[(O)] = N[(C)] = N[\frac{p}{q}] = [\frac{69}{38}].$$

(iii) Substituindo os valores dos tangles O_b, P e R nas equações (6.9) e (6.11), temos:

- $N(O_b + P) = \text{substrato} \longrightarrow N([\frac{69}{38}] + [0]) = ([\frac{69}{38}])$

- $N(O_b + nR) = K_n \longrightarrow N([\frac{69}{38}] + n[-1]) = K_n;$

(iv) Através da equação (6.11), encontramos os invariantes topológicos das quatro primeiras rodadas de recombinação da seguinte maneira:

- Para $n = 1$, temos:

$$K_1 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 1[-1]) = ([\frac{31}{38}]).$$

- Para $n = 2$, temos:

$$K_2 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 2[-1]) = ([-\frac{7}{38}]).$$

- Para $n = 3$, temos:

$$K_3 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 3[-1]) = ([-\frac{45}{38}]).$$

- Para $n = 4$, temos:

$$K_4 \longrightarrow ([\frac{69}{38}] + 4[-1]) = ([-\frac{83}{38}]).$$

2º) Determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 , e K_4 (formas topológicas), da seguinte forma:

(i) Calculamos as frações contínuas de K_1, K_2, K_3 , e K_4 , usando o algoritmo de Euclides (Seção 4.5, Capítulo 4):

- Para K_1 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_1 = \frac{31}{38} &= 0 + \frac{31}{38} = 0 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}.
 \end{aligned}$$

Portanto, $K_1 = \frac{31}{38} = [0] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} = [[0], [1], [4], [2], [3]].$

- Para K_2 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_2 = -\frac{7}{38} &= -1 + \frac{31}{38} = -1 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = -1 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= -1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = -1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = -1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= -1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}},
 \end{aligned}$$

Portanto, $K_2 = -\frac{7}{38} = [-1] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} = [[-1], [1], [4], [2], [3]].$

- Para K_3 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_3 = -\frac{45}{38} &= -2 + \frac{31}{38} = -2 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = -2 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= -2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = -2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = -2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= -2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}, \\
 \text{Portanto, } K_3 = -\frac{45}{38} &= [-2] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + [3]}}} = [[-2], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

• Para K_4 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_4 = -\frac{83}{38} &= -3 + \frac{31}{38} = -3 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = -3 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= -3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = -3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = -3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{\frac{7}{3}}}} \\
 &= -3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}}, \\
 \text{Portanto, } K_4 = -\frac{83}{38} &= [-3] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + [3]}}} = [[-3], [1], [4], [2], [3]].
 \end{aligned}$$

(ii) Fazemos a descrição algébrica para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , através de suas frações contínuas:

• Para K_1 , temos:

$$K_1 = [[0], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [0]).$$

• Para K_2 , temos:

$$K_2 = [[-1], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-1]).$$

- Para K_3 , temos:

$$K_3 = [[-2], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-2]).$$

- Para K_4 , temos:

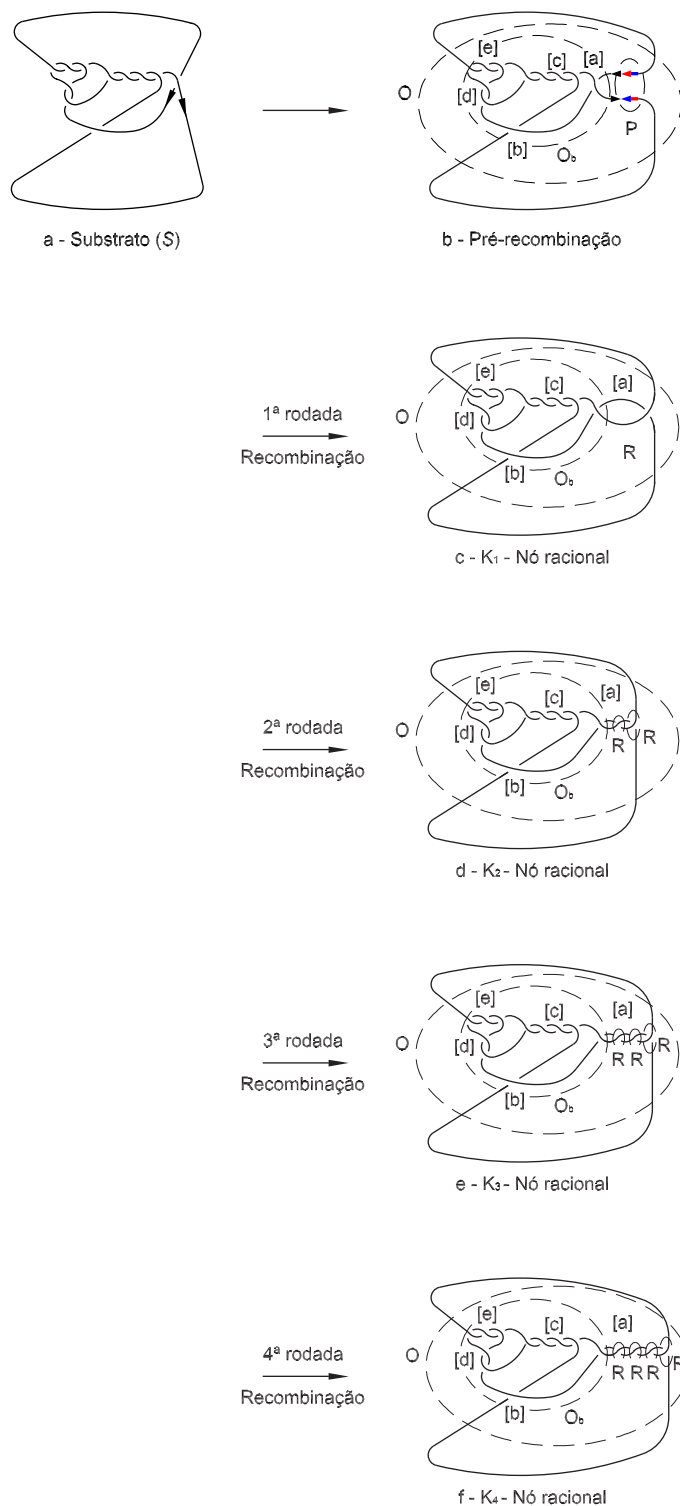
$$K_4 = [[-3], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-3]).$$

(iii) Através da expressão algébrica e do vetor canônico para cada rodada de recombinação K_1, K_2, K_3 , e K_4 , representamos as suas projeções planares da seguinte forma:

- (a) Cada valor da expressão algébrica e seu respectivo vetor canônico, $[[a],[b],[c],[d],[e]]$, representa as torções horizontais e verticais intercaladas do tangle racional O para K_1, K_2, K_3 , e K_4 . O tangle inteiro $[a]$ representa o término das torções e o tangle inteiro $[e]$ representa o início das torções;

$$O = [[a], [b], [c], [d], [e]] = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a]);$$

- (b) Fazemos as projeções planares de cada rodada de recombinação, iniciando com o tangle $[e]$ e terminando com o tangle $[a]$, tomando seu *numerador*. Esse processo representa a forma geométrica para cada rodada de recombinação.



Descrição Algébrica via Frações Contínuas

1º) Calculamos os invariantes topológicos para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , da seguinte maneira:

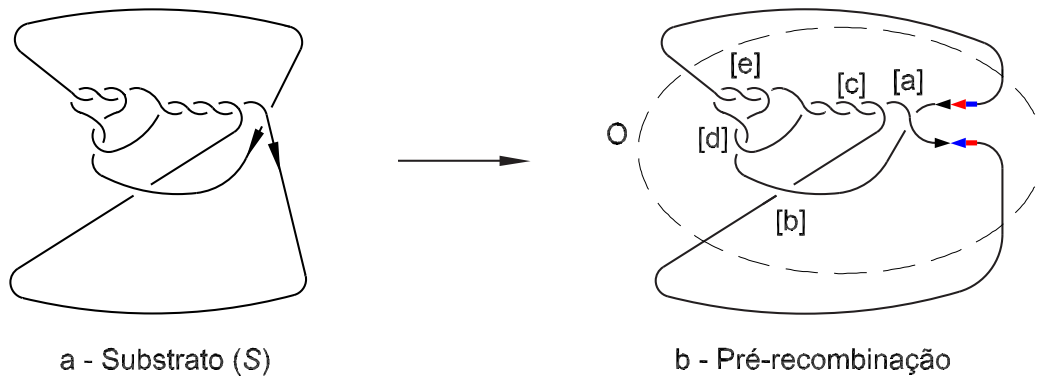


Figura 6.16: Projeções planares do substrato e da pré-recombinação.

(i) Através da Figura 6.16, estabelecemos o local onde ocorrerá a reação enzimática, definido como tangle $[a]$. O local do tangle $[a]$ é a única parte da molécula de DNA que estará sofrendo variações;

(ii) Do tangle racional O , temos:

$$O = [[a], [b], [c], [d], [e]] = (((([e] * \frac{1}{[d]}) + [c]) * \frac{1}{[b]}) + [a])$$

$$O = [[1], [1], [4], [2], [3]] = (((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [1]);$$

(iii) Em cada rodada de recombinação temos a geração de um cruzamento (-). Então para n rodadas de recombinação teremos a substituição do tangle $[a]$ por um tangle $[a + (-n)]$;

(iv) Tanto no substrato quanto na pré-recombinação, temos que $[a]=[1]$. Portanto, en-

contramos o vetor canônico e a expressão algébrica para K_1, K_2, K_3 , e K_4 , da seguinte maneira:

- Para K_1 , temos:

$$K_1 = [[0], [1], [4], [2], [3]] = ((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [0].$$

- Para K_2 , temos:

$$K_2 = [[-1], [1], [4], [2], [3]] = ((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-1].$$

- Para K_3 , temos:

$$K_3 = [[-2], [1], [4], [2], [3]] = ((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-2].$$

- Para K_4 , temos:

$$K_4 = [[-3], [1], [4], [2], [3]] = ((([3] * \frac{1}{[2]}) + [4]) * \frac{1}{[1]}) + [-3].$$

(v) Escrevemos cada vetor canônico na forma de sua fração contínua, com o objetivo de encontrarmos os invariantes topológicos de K_1, K_2, K_3 , e K_4 :

- Para K_1 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_1 &= [[0], [1], [4], [2], [3]] = [0] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_1 &= [0, 1, 4, 2, 3] = 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{7}}} \\
 &= 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{3}{7}}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{1}{\frac{31}{7}}} = 0 + \frac{1}{1 + \frac{7}{31}} \\
 &= 0 + \frac{1}{\frac{38}{31}} = 0 + \frac{31}{38} = \frac{31}{38}.
 \end{aligned}$$

$$Portanto, K_1 = \frac{31}{38}.$$

- Para K_2 , temos:

$$\begin{aligned}
 K_2 &= [[-1], [1], [4], [2], [3]] = [-1] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_2 &= [-1, 1, 4, 2, 3] = -1 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= -1 + \frac{31}{38} = -\frac{7}{38}.
 \end{aligned}$$

$$Portanto, K_2 = -\frac{7}{38}.$$

- Para K_3 , temos:

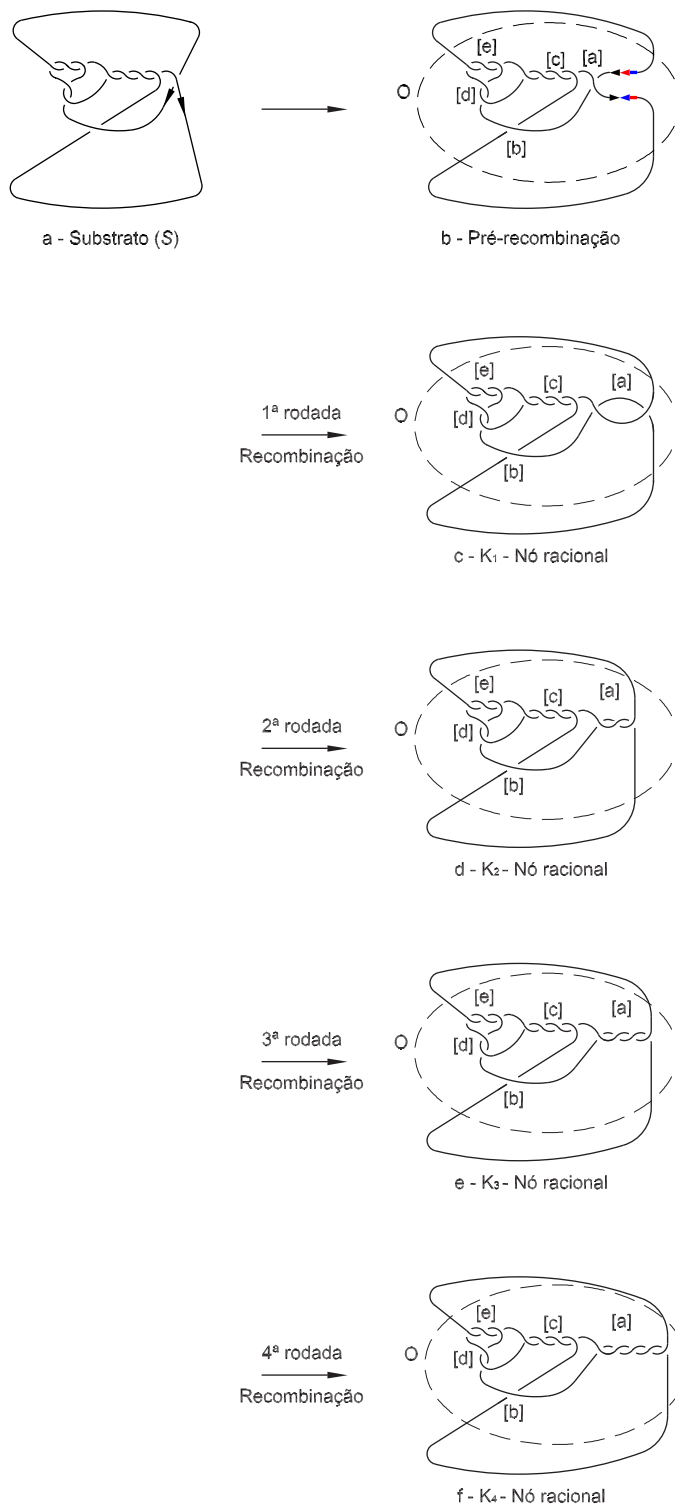
$$\begin{aligned}
 K_3 &= [[-2], [1], [4], [2], [3]] = [-2] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_3 &= [-2, 1, 4, 2, 3] = -2 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= -2 + \frac{31}{38} = -\frac{45}{38}. \\
 \text{Portanto, } K_3 &= -\frac{45}{38}.
 \end{aligned}$$

- Para K_4 , temos:

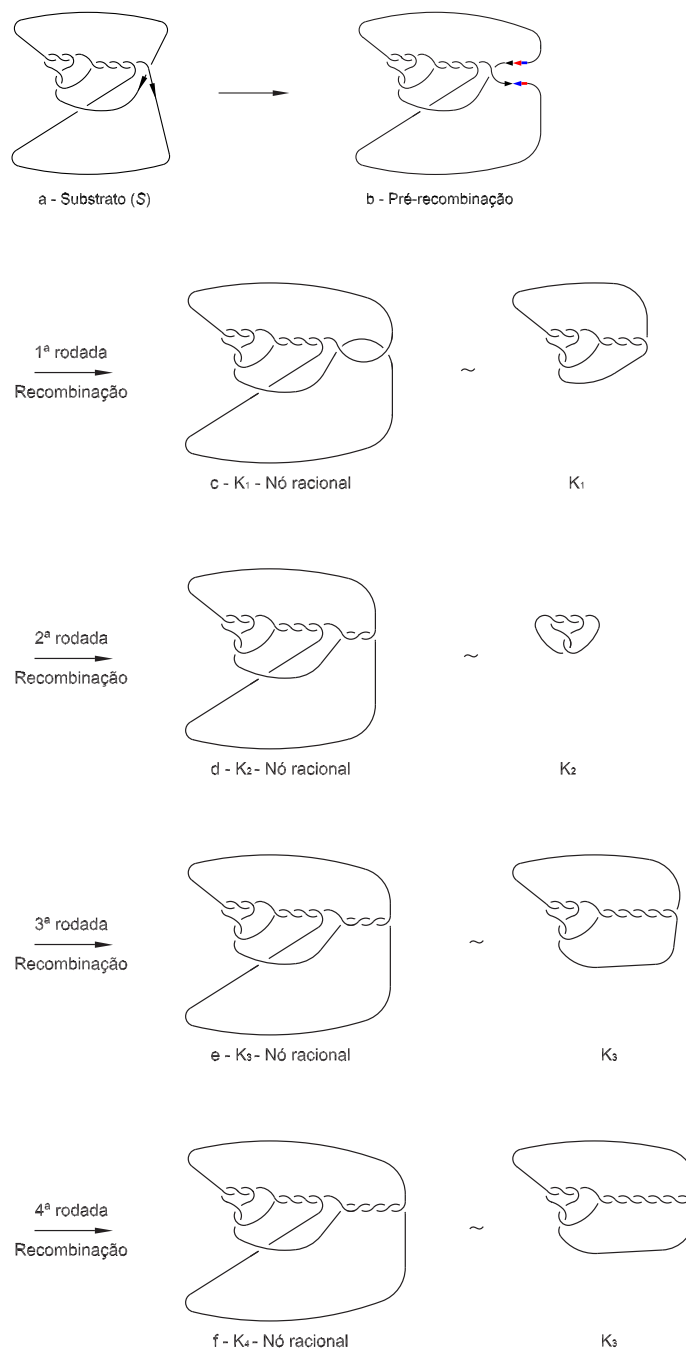
$$\begin{aligned}
 K_4 &= [[-3], [1], [4], [2], [3]] = [-3] + \frac{1}{[1] + \frac{1}{[4] + \frac{1}{[2] + \frac{1}{[3]}}}} \\
 K_4 &= [-3, 1, 4, 2, 3] = -3 + \frac{1}{1 + \frac{1}{4 + \frac{1}{2 + \frac{1}{3}}}} \\
 &= -3 + \frac{31}{38} = -\frac{83}{38}. \\
 \text{Portanto, } K_4 &= -\frac{83}{38}.
 \end{aligned}$$

2º) Determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 , e K_4 que correspondem às suas formas topológicas, da seguinte forma:

Do passo 1º) relativo ao cálculo dos invariantes topológicos, temos os vetores canônicos e suas respectivas expressões algébricas no item (iv). Com isso, determinamos as projeções planares para K_1, K_2, K_3 e K_4 igualmente apresentadas no item (iii) relativo ao modelo matemático anterior (modelo tangle);



(ii) Como as projeções planares resultantes dos produtos das quatro rodadas de recombinação, com sítios repetidos inversamente gerando um cruzamento (-) em cada rodada, não são diagramas alternantes. Portanto, devemos determinar os diagramas mínimos executando os movimentos isotópicos nas projeções planares de cada Nó racional (produto).



6.3 Conclusões

Neste capítulo, apresentamos com detalhes, os procedimentos da aplicação de dois modelos matemáticos (modelo tangle e frações contínuas) capazes de prever os produtos resultantes de recombinação de Nós e Catenanes, com sítios repetidos inversamente que geram uma série de cruzamentos (+) ou (-) ao longo de um segmento contínuo de DNA.

Com a aplicação do modelo tangle, podemos determinar a estrutura topológica de qualquer produto resultante desta recombinação tendo apenas as informações sobre o substrato e a ação enzimática. Comprovamos assim sua eficiência, na recombinação de um substrato trivial, com sítios repetidos diretamente que geram uma série de cruzamentos (+) ao longo de um segmento contínuo de DNA (Capítulo 4).

Com a aplicação da descrição algébrica via frações contínuas obtivemos os mesmos resultados, porém seguros quanto a determinação da estrutura topológica, algébrica e geométrica para qualquer rodada de recombinação tendo apenas o conhecimento do substrato e da ação enzimática, em um contexto não considerado anteriormente na literatura científica.

Conseguimos obter a estrutura topológica, algébrica e geométrica para qualquer rodada de recombinação de um substrato pertencente à família plectonêmica, considerando somente as informações do substrato e da ação enzimática obtidas em suas projeções planares. Neste sistema de recombinação também conseguimos obter o número da rodada que se deseja conhecer o produto.

Capítulo 7

Conclusões

Este trabalho teve como um dos objetivos apresentar ferramentas matemáticas que possam dar sustentação e continuidade ao estudo da topologia do DNA. Sendo que o principal objetivo está na aplicação de modelos matemáticos capazes de determinar a estrutura topológica de todos os produtos resultantes da recombinação ao longo de um segmento contínuo de DNA, tendo apenas o conhecimento do substrato e da ação enzimática, baseando-se nos mecanismos *resolvase Tn3* e *integrase* [8] e [9].

Iniciamos com a aplicação do modelo tangle e comprovamos a sua eficiência na determinação dos invariantes topológicos para qualquer produto resultante desta recombinação. Porém, não é uma tarefa fácil determinar as projeções planares que correspondem a estes invariantes topológicos, o qual chamamos de estruturas topológicas, pois devemos usar a intuição topológica para determinar uma a uma as correspondentes projeções planares, tornando inviável tal procedimento. Contudo, diante da impossibilidade de se obter tais estruturas topológicas, propomos um novo modelo matemático, a descrição algébrica via frações contínuas, capaz de determinar a estrutura topológica de qualquer produto desta recombinação: topológica, algébrica e geometricamente, de forma ainda não considerada na literatura científica.

7.1 Contribuições

As contribuições deste trabalho encontram-se no Capítulo 6. Neste capítulo, mostramos uma proposta para a aplicação de dois modelos matemáticos capazes de prever todos os produtos de recombinação de um Nó racional. Tal proposta consiste em determinar a estrutura topológica, através do modelo tangle e da descrição algébrica via frações contínuas, de todos os produtos gerados por meio das duas possibilidades de recombinação com

sítios repetidos inversamente gerando um cruzamento (+) ou (-) ao longo de um segmento contínuo do DNA em cada rodada de recombinação. Esta é uma contribuição importante, pois Ernest e Sumners mostraram em [14]-[19] apenas como determinar os invariantes topológicos através das equações tangle, enquanto que, Kauffman e Lambropoulos mostraram em [24]-[26] apenas a teoria da classificação dos tangles e dos Nós racionais.

É importante notar que, para determinar as estruturas topológicas dos produtos de recombinação, usamos tanto o modelo tangle [14]-[17], quanto a classificação dos tangles e dos Nós racionais [24]-[26], assim construindo com um novo modelo matemático capaz de determinar a estrutura topológica de qualquer produto de recombinação.

Ressaltamos que a aplicação da descrição algébrica, via frações contínuas, na recombinação é uma importante contribuição no estudo da topologia do DNA, pois na análise de qualquer substrato e ação enzimática que tenha o mesmo comportamento dos mecanismos *resolvase Tn3* e *integrase* poderemos compará-las à classificação dos tangles racionais e dos Nós racionais, uma vez que a família a que pertencem os Nós racionais é muito grande e a maioria dos produtos de recombinação são Nós racionais ou obtidos de tangles racionais [4], [6] e [26].

7.2 Propostas para Trabalhos Futuros

Como sugestões para futuras pesquisas, propomos os seguintes tópicos:

- Determinar métodos mais simples capazes de prever os produtos resultantes da recombinação de outras famílias de Nós ou Catenanes;
- Utilizar a classificação de tangles e Nós racionais para compreender o mecanismo enzimático de outras enzimas;
- Determinar uma classificação para os produtos resultantes da recombinação que são Nós racionais em: Nós primos, Nós toro, tranças de 4 fios (*4-plats*);
- Pesquisar tangles algébricos e suas variedades, com o objetivo de ampliar a aplicação dos tangles à topologia do DNA;
- Determinar modelos matemáticos capazes de prever a ação enzimática de outras enzimas, tendo o conhecimento do substrato e do produto;
- Determinar modelos matemáticos capazes de prever o substrato, tendo o conhecimento da ação enzimática e do produto;

- Aplicar a classificação de tangles e Nós racionais no campo da terapia gênica;
- Utilizar a classificação de tangles e Nós racionais e a classificação de tangles algébricos em outros campos de atuação que exigem o mesmo rigor matemático.

Referências Bibliográficas

- [1] K. Reidemeister, “Knoten und Verkettungen”, *Math. Zeitschrift*, vol. 29, 1929.
- [2] J. H. Conway, *An Enumeration of the Knots and Links and some of their Algebraic Properties*, (Proc.Conf.Oxford, 1967), Pergamon Press Oxford, pp. 329-358, 1970.
- [3] J. S. Frame, “Continued Fractions and Matrices”, Classroom notes, C.B.Allendoerfer ed., *The Amer. Math. Monthly*, vol. 56, pp. 98-103, 1949.
- [4] G. Burde e Zieschang, *Knots*, de Gruyter Studies in Mathematics, vol. 5, 1985.
- [5] M. C. Culler, C. M. Gordon, J. Luecke e P. B. Shalen, “Dehn Surgery on Knots”, *Ann. of Math.*, (2), 125, pp. 237-300, 1987.
- [6] D. Rolfsen, *Knots and Links*, Publish or Perish or Press, Berkeley, 1990.
- [7] J. C. Wang, “DNA Topoisomerases”, *Scientific American*, vol. 247, pp. 94-109, 1982.
- [8] S. A. Wasserman, e N. R. Cozzarelli, “Determination of the Stereostructure of the Product of Tn3 Resolvase by a General Method”, *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 82, pp. 1070-1083, 1985.
- [9] S. A. Wasserman e N. R. Cozzarelli, “Biochemical Topology: Applications to DNA Recombination and Replication”, *Science*, vol. 232, pp. 951-960, 1986.
- [10] J. H. White, K. C. Millett e N. R. Cozzarelli, “Description of the Topological Entanglement of DNA Catenanes and Knots by a Powerful Method Involving Strand Passage and Recombination”, *J. Mol. Biology*, vol. 197, pp. 585-603, 1987.
- [11] H. W. Benjamin e N. R. Cozzarelli, “Isolation and Characterization of the Tn3 Resolvase Synaptic Intermediate”, *EMBO J.*, vol. 7, pp. 1897-1905, 1988.
- [12] P. Dröge e N. R. Cozzarelli, “Recombination of Contorted Substrates by Tn3 Resolvase”, *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 86, pp. 6062-6066, 1989.

- [13] R. Kannar, A. Klippel, E. Shekhtman, J. M. Dungan, R. Kahmann e N. R. Cozzarelli, “Processive Recombination By the Page Mu Gin System: Implications for the Mechanism of DNA Strand Exchange, DNA site Alignment, and Enhancer Action”, *Cell*, vol. 62, pp. 353-366, 1990.
- [14] D. W. Sumners Jr., “Untangling DNA”, *Math. Intelligencer*, vol. 12, No. 3, pp. 71-80, 1990.
- [15] C. Ernest e D. W. Sumners, “A Calculus for Rational Tangles: Applications to DNA Recombination”, *Math. Proc. Cambridge Philos. Soc.*, vol. 108, pp. 489-515, 1990.
- [16] D. W. Sumners, “Lifting the Curtain: Using Topology to Probe the Hidden Action of Enzymes”, *Notices of the AMS*, vol. 42, No. 5, pp. 528-537, 1995.
- [17] C. Ernest, D. W. Sumners, S. J. Spengler e N. R. Cozzarelli, “Analysis of the Mechanism of DNA Recombination Using Tangles”, *Quarterly of Biophysics*, vol. 28, No. 3, pp. 253-313, 1995.
- [18] C. Ernest, “Tangle Equations”, *Journal of Theory and Ramifications*, vol.5, No. 2, pp. 145-159, World Scientific, 1996.
- [19] C. Ernest, “Tangle Equations II”, *Journal of Theory and Ramifications*, vol. 6, No. 6, pp. 1-11, World Scientific, 1997.
- [20] I. Darcy, “Biological Distances on DNA knots and Links: Applications to Xer Recombination”, *J. Knot Theory Ramifications*, to appear.
- [21] I. Darcy e D. W. Sumners, “A strand passage metric for topoisomerase action”, In *Knots '96*, pp. 267-278, World Scientific, 1997.
- [22] I. Darcy e D. W. Sumners, “Rational Tangles Distances on Knots and Links”, *Math. Proc. Camb. Philos. Soc.*, vol. 128, pp. 497-510, 2000.
- [23] J. R. Goldman e L. H. Kauffman, “Rational Tangles”, *Advances in Applied Math.*, vol. 18, pp. 300-332, 1997.
- [24] L. H. Kauffman e S. Lambropoulou, “Classifying and Applying Rational Knots and Rational Tangles”, to appear in the AMS Contemporary Mathematics Series, 2002. (<http://www.math.uic.edu/~kauffman/> ou <http://users.ntua.gr/sofiol>).

- [25] L. H. Kauffman e S. Lambropoulou, “On the Classification of Rational Tangles”, submetitted for publication, 2002. (<http://www.math.uic.edu/~kauffman/> ou <http://users.ntua.gr/sofiol>).
- [26] L. H. Kauffman e S. Lambropoulou, “On the Classification of Rational Knots”, submetitted for publication, 2002. (<http://www.math.uic.edu/~kauffman/> ou <http://users.ntua.gr/sofiol>).
- [27] D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Fundamentos de Bioquímica*, Editora Artmed, 1^a Reimpressão, 2002.
- [28] T. M. Devlin, *Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas*, Editora Edgard Blücher Ltda, 1^a Reimpressão, 2000.
- [29] L. Stryer, *Bioquímica*, Editora Guanabara Koogan S.A., 4^a Edição, 1996.
- [30] L. H. Kauffman, *Knots and Physics*, Series on Knots and Erverything, Vol.1, Word Scientific, 1991.
- [31] Advanced Series in Mathematical Physics, *New devolopments in the theory of knots*, Editor Toshitake kohno, vol.11, 1989.
- [32] Rocha, Andréa S.L., *Modelos Matemáticos para a Previsão de Recombinações Sítio-específica do DNA*, tese de Mestrado, FEEC-UNICAMP, 2004.